

**UNIVERSITÉ DU QUÉBEC**

**EFFET DE LA DENSITÉ  
SUR LA CROISSANCE ET LE NIVEAU DE STRESS  
CHEZ LE LOUP TACHETÉ (*ANARHICHAS MINOR*)**

**MÉMOIRE  
PRÉSENTÉ À  
L'UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À RIMOUSKI  
comme exigence partielle du programme de maîtrise  
en Gestion de la Faune et de ses Habitats**

**PAR  
SARAH TREMBLAY-BOURGEOIS**

**Juin, 2010**

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À RIMOUSKI  
Service de la bibliothèque

Avertissement

La diffusion de ce mémoire ou de cette thèse se fait dans le respect des droits de son auteur, qui a signé le formulaire « *Autorisation de reproduire et de diffuser un rapport, un mémoire ou une thèse* ». En signant ce formulaire, l'auteur concède à l'Université du Québec à Rimouski une licence non exclusive d'utilisation et de publication de la totalité ou d'une partie importante de son travail de recherche pour des fins pédagogiques et non commerciales. Plus précisément, l'auteur autorise l'Université du Québec à Rimouski à reproduire, diffuser, prêter, distribuer ou vendre des copies de son travail de recherche à des fins non commerciales sur quelque support que ce soit, y compris l'Internet. Cette licence et cette autorisation n'entraînent pas une renonciation de la part de l'auteur à ses droits moraux ni à ses droits de propriété intellectuelle. Sauf entente contraire, l'auteur conserve la liberté de diffuser et de commercialiser ou non ce travail dont il possède un exemplaire.

## AVANT-PROPOS

Le chapitre 2 de ce mémoire, présenté par les auteurs Sarah Tremblay-Bourgeois (UQAR), Nathalie R. Le François (UQAR-Biodôme), Robert L. Roy (IML), Tillmann J. Benfey (UNB) et Albert K. Imsland (*University of Bergen*) est sous presse dans la revue *Aquaculture Research*. La version présentée ici a toutefois été légèrement modifiée suite à la révision du mémoire par les membres du jury.

## REMERCIEMENTS

On sait que l'on fait vraiment partie de l'équipe poissons marins lorsque l'on commence à trouver les loups *cutes* et à les défendre contre ceux qui osent affirmer qu'ils sont laids !

Un gros merci à ma directrice, Nathalie, de m'avoir permis d'intégrer cette équipe et de m'avoir donné ma chance dans le monde à part de la maîtrise. Je te suis très reconnaissante, car nous avons surmonté nos différends et fait du bon travail. Je suis très heureuse d'avoir cheminé en ta compagnie.

Merci aussi à Robert et Tillmann pour leurs encouragements et leur intérêt envers cette maîtrise. L'un m'a ouvert les portes de l'IML et l'autre est venu jusqu'à Grande-Rivière voir comment ça se déroulait.

Un incontournable merci à Tony, le corps et l'âme de la salle des bassins, pour ta dévotion envers nos chers poissons. Sans toi, il n'y aurait aucun projet de maîtrise qui pourrait fonctionner ! Merci aussi aux gens du CAMGR d'accueillir la troupe étrange d'uqariens que nous sommes ! Merci à Alain Caron pour m'avoir laissé être dans le top 10 des étudiants qui posent le plus de questions et ce tant au bac qu'à la maîtrise !

Merci à Catherine ainsi qu'à François, Arianne et tous les autres amis par défaut qui ont rendu Grande-Rivière non pas supportable, mais vraiment super agréable par moment !

Merci à Rimouski pour les nombreux amis et le milieu universitaire tellement le *fun* que je n'ai pas eu d'autre choix que de continuer à la maîtrise !

Et bien sûr, merci à mes parents de me soutenir et de m'encourager dans tous mes projets, d'une région à l'autre ! Ce mémoire n'existerait pas sans vous.

## RÉSUMÉ

La densité optimale est un facteur déterminant dans la mise en place d'élevages aquacoles de qualité tant du point de vue de la productivité que de celui du bien-être animal. Cette étude permet de cibler la densité d'élevage à laquelle la croissance est maximisée pour des juvéniles de loup tacheté (*Anarhichas minor* Olafsen) dans la gamme de taille entre 50 à 200 g. De plus, elle aide à déterminer le niveau de bien-être des poissons exposés à de fortes densités à l'aide de différents indicateurs du stress secondaire, tels que hémocrite, concentration en ions et indice hépatosomatique, ainsi que de la réponse immunitaire, soit l'activité des lysozymes plasmatiques. L'évaluation du potentiel de croissance de même que de l'état de bien-être ou de stress du loup tacheté à haute densité est primordiale pour le développement d'un élevage commercial chez cette espèce fort prometteuse pour la diversification de la production maricole québécoise. Il s'avère, selon les résultats de la présente étude, que les juvéniles de moins de 100 g devraient être maintenus à des densités ne dépassant pas  $40 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-2}$  alors qu'au-delà de cette taille, la densité peut facilement atteindre  $40 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-2}$  et probablement plus sans conséquence néfaste sur la croissance ni sur le bien-être du poisson. Cette étude vient confirmer la tolérance du loup tacheté à de hautes densités et contribue à établir des barèmes à respecter pour l'élevage commercial. Elle est la première à se pencher sur le niveau de bien-être en lien avec la densité chez le loup tacheté et ouvre ainsi la voie à une évaluation plus poussée de la réponse au stress chez cette espèce.

## TABLE DES MATIÈRES

AVANT-PROPOS .....	ii
REMERCIEMENTS .....	iii
RÉSUMÉ .....	v
TABLE DES MATIÈRES .....	vi
LISTE DES TABLEAUX .....	viii
LISTE DES FIGURES .....	ix
LISTE DES ABRÉVIATIONS .....	x
CHAPITRE PREMIER	
INTRODUCTION GÉNÉRALE .....	1
1.1 Contexte .....	1
1.2 Croissance .....	5
1.3 Stress .....	8
1.4 Objectifs et hypothèses .....	12
CHAPITRE 2	
EFFECT OF REARING DENSITY ON THE GROWTH AND WELFARE INDICES OF JUVENILE SPOTTED WOLFFISH, <i>ANARHICHAS MINOR</i> (OLAFSEN .....	13
2.1 Abstract .....	13
2.2 Introduction .....	14

2.3	Material and methods .....	17
2.3.1	Experiment I (increasing densities): 50-100 g .....	17
2.3.2	Experiment II (fixed densities): 100-160 g .....	19
2.3.3	Statistical analyses .....	21
2.4	Results .....	22
2.4.1	Experiment I (increasing densities): 50-100 g .....	22
2.4.2	Experiment II (fixed densities): 100-160 g .....	26
2.5	Discussion .....	30
2.5.1	Growth .....	30
2.5.2	Welfare .....	32
2.6	Conclusion .....	34
2.7	Acknowledgements .....	35
CHAPITRE 3		
	CONCLUSION GÉNÉRALE .....	36
3.1	Bilan et avancement des connaissances .....	36
3.2	Limites de l'étude et perspectives .....	37
	BIBLIOGRAPHIE .....	41



## LISTE DES TABLEAUX

<b>Table 1</b> .....	24
Growth parameters (mean $\pm$ SE) at every time of measurement for 50-100 g spotted wolffish raised at three different increasing rearing densities (Experiment I)	
<b>Table 2</b> .....	25
Ion concentrations (mean $\pm$ SE) at days 0, 15 and 30 for 50-100 g juvenile spotted wolffish raised at three different increasing rearing densities (Experiment I)	
<b>Table 3</b> .....	28
Growth parameters (mean $\pm$ SE) at different sampling time for 100-160 g spotted wolffish raised at three different fixed rearing densities (Experiment II)	
<b>Table 4</b> .....	29
Secondary stress indicators values and lysozyme activity for juvenile spotted wolffish raised at three different fixed rearing densities for 186 days (control) and stressed by an additional air immersion (stressed) (Experiment II)	

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1</b> .....	23
Weight gain (mean, $g \pm SE$ ) over 120 days at three different increasing rearing densities (10 ( $\circ$ ), 20 ( $\bullet$ ) and $40 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-2}$ ( $\square$ )) for 50-100 g spotted wolffish (Experiment I)	
<b>Figure 2</b> .....	27
Weight gain (mean, $g \pm SE$ ) over 90 days at three different fixed rearing densities (20 ( $\bullet$ ), 30 ( $\Delta$ ) and $40 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-2}$ ( $\square$ )) for 100-160 g spotted wolffish (Experiment II)	

## LISTE DES ABRÉVIATIONS

**ACTH**, hormone adrénocorticotropique « *adrenocorticotropic hormone* »

**CF**, indice de condition corporelle « *condition factor* »

**GR**, taux de croissance moyen « *(mean) growth rate* »

**Hct**, hématocrite « *haematocrit* »

**HPA**, (axe) hypothalamo-pituitaire-surrénal « *hypothalamus-pituitary-adrenal (axis)* »

**HPI**, (axe) hypothalamo-pituitaire-interrénal « *hypothalamus-pituitary-interrenal (axis)* »

**HSI**, indice hépatosomatique « *hepatosomatic index* »

**kg·m<sup>-2</sup>**, kilogramme par mètre carré « *kilogram per square meter* »

**SD**, écart-type « *standard deviation* »

**SE**, erreur-type « *standard error* »

**SGR**, taux de croissance spécifique « *specific growth rate* »

**TP**, quantité totale de protéines plasmatiques « *total (amount of plasma) proteins* »

## CHAPITRE 1

### INTRODUCTION GÉNÉRALE

#### 1.1 Contexte

En 2006, l'aquaculture a fourni environ 36 % de la production poissonnière mondiale, soit 51,7 millions de tonnes de poissons sur un total de 143,6 (FAO, 2008). L'apport de cette industrie à la consommation humaine s'est accru considérablement durant les 50 dernières années et est appelé, selon les prédictions de l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO, 2008), à éventuellement surpasser celui des pêcheries. Avec un maigre 640 tonnes de poissons d'élevage sur les 113 384 produites au Canada en 2008, le Québec n'est qu'un joueur de faible envergure (MPO, 2008). Il y a donc largement place au développement pour cette industrie au Québec. De plus, l'aquaculture pourrait bénéficier de la situation actuelle de surexploitation des ressources halieutiques. Le rétablissement difficile des stocks de poissons de fond appelle entre autres à la diversification de la mariculture, d'où l'intérêt de développer le potentiel de diverses espèces marines et anadromes (Le François *et al.*, 2002). C'est dans ce contexte que le loup de mer tacheté, *Anarhichas minor* (Olafsen) ainsi que dans une moindre mesure le loup de mer atlantique, *A. lupus* L. se sont vus la cible de nombreux efforts de recherche concertés depuis 1998 (Le François & Archer, 2007). En effet, lorsque évalués sur l'ensemble du cycle de production, les loups se classent, avec l'omble chevalier, *Salvelinus alpinus* L., parmi les espèces les plus prometteuses pour l'aquaculture en eau froide (Le François *et al.*,

2002). La recherche sur l'élevage du loup tacheté est particulièrement importante en Norvège, d'ailleurs le seul endroit où une ferme commerciale a déjà été en opération. L'Islande travaille également sur cette espèce, de même que le Canada, dans les provinces de Terre-Neuve et du Québec (Imsland *et al.*, 2006; Le François & Archer, 2007). Les anarhichadidae ne subissent actuellement aucune pêche dirigée au pays et sont considérés comme des espèces préoccupantes ou menacées par le Comité sur la situation des espèces en péril au Canada (COSEPAC, 2009). Un plan de rétablissement est d'ailleurs sur pied (Kulka *et al.*, 2007) et des efforts de restauration sont envisagés sur les populations sauvages de loups de mer de l'estuaire du Saint-Laurent (Québec, Canada) (Larocque *et al.*, 2008).

Un haut taux de croissance, des larves de grande taille qui peuvent être nourries d'aliments pré-formulés dès l'éclosion, un comportement non agressif et une faible incidence de maladies sont quelques-unes des caractéristiques qui justifient l'intérêt porté au loup tacheté (Falk-Petersen *et al.*, 1999; Foss *et al.*, 2004). De plus, le loup tacheté est très résistant aux variations de la qualité des paramètres de l'eau (Foss *et al.*, 2004). Ce poisson présente également un bon potentiel de mise en marché. Grâce à une étude réalisée auprès de restaurateurs canadiens et américains en 2004, Laflamme *et al.* ont déterminé que le loup tacheté était apprécié des consommateurs et des chefs cuisiniers et qu'avec son prix élevé, l'élevage commercial pouvait être rentabilisé. Cette espèce nécessite cependant une longue période d'acclimatation lorsque son environnement, température, luminosité ou type de bassin par exemple, est modifié (Foss *et al.*, 2002; Mortensen *et al.*, 2007). Cela peut se traduire par une diminution temporaire de la prise alimentaire et de la croissance (Foss *et al.*, 2003).

Les conditions de culture qui influencent la croissance chez le loup tacheté sont encore largement méconnues (Jonassen, 2002). L'optimisation de la densité d'élevage, qui constitue pourtant un facteur déterminant dans la conception d'un système d'aquaculture efficace, a par exemple très peu été étudiée. À des densités très élevées, une réduction de l'alimentation et de la croissance, souvent due à un haut niveau de stress (Siddiqui *et al.*, 1989; Boujard *et al.*, 2002), peut conduire, au même titre qu'une sous-utilisation de l'espace, à une baisse de rentabilité (Rahman *et al.*, 2005; Abou *et al.*, 2007).

De façon générale, le loup tacheté en captivité semble tolérer et même rechercher la présence d'un grand nombre de congénères (Øiestad, 1999; Foss *et al.*, 2004). Une réduction de croissance peut tout de même être visible avec une augmentation de la densité, du moins chez les juvéniles (Jonassen, 2002). Bien que les densités optimales, définies comme celles qui maximisent soit le taux de croissance, soit la biomasse (Ellis *et al.*, 2002), soient déjà connues chez plusieurs espèces d'élevage, il est très important de déterminer ces paramètres pour chaque nouvelle espèce utilisée en aquaculture. En effet, les patrons de croissance liés à la densité sont différents entre les espèces (Irwin *et al.*, 1999; Boujard *et al.*, 2002; Merino *et al.*, 2007). Des relations autant positives que négatives peuvent être observées entre croissance et densité (Irwin *et al.*, 1999) en lien entre autres avec la grégarité de chacune des espèces (Merino *et al.*, 2007). Les plus territoriales se montrent généralement plus agressives à haute densité alors que les plus sociales bénéficient de l'effet positif du rassemblement en banc (Papoutsoglou *et al.*, 2006; Ashley, 2007). Chez les poissons négativement affectés par une haute densité, une détérioration des paramètres de l'eau s'additionne souvent aux interactions sociales accrues pour causer un stress

chronique résultant en une diminution des performances de croissance (Siddiqui *et al.*, 1989; Boujard *et al.*, 2002; Ruane *et al.*, 2002; Foss *et al.*, 2003; Bolasina *et al.*, 2006; Papoutsoglou *et al.*, 2006).

Le loup tacheté est un poisson de fond solitaire dont le comportement en milieu naturel est relativement mal connu (Le François & Archer, 2007). Dû à l'agressivité de son cousin le loup atlantique, pour lequel le maintien d'un grand nombre d'individus en captivité demeure difficile (N. R. Le François, communication personnelle, 2010), la capacité élevée du loup tacheté à vivre à haute densité apparaît surprenante. Il s'avère donc particulièrement intéressant de bien comprendre les relations entre densité, stress et croissance chez cette espèce. Des résultats spécifiques à la souche québécoise seraient également bienvenus, surtout en considérant le projet de ferme d'élevage actuellement en préparation au Bas-Saint-Laurent.

De plus, le degré de réaction face au stress présente généralement d'importantes variations inter-spécifiques (Wedemeyer *et al.*, 1990; Pankhurst *et al.*, 1992; Vijayan & Moon, 1994; Pottinger *et al.*, 1999). Sauf erreur, Lays *et al.* (2009) sont les seuls auteurs à avoir caractérisé la réponse propre au loup tacheté à ce jour. Ils se sont concentrés sur les effets du stress soudain et de l'hypoxie. L'évaluation de la réponse au stress apparaît donc nécessaire dans le cadre actuel afin de mieux comprendre l'impact de la densité sur le niveau de stress chez cette espèce.

## 1.2 Croissance

La diminution du taux de croissance associée à une augmentation de la densité chez les poissons d'élevage peut se traduire par une réduction de la longueur, de la masse, de l'indice de condition corporelle, qui est fonction de la masse et de la longueur, de la prise alimentaire et de l'efficacité de conversion de nourriture ingérée en masse de poisson (Ellis *et al.*, 2002; North *et al.*, 2006; Papoutsoglou *et al.*, 2006; Abou *et al.*, 2007). Cela peut s'expliquer par une réallocation de l'énergie vers le maintien de l'homéostasie sous un stress chronique causé par la détérioration des conditions de l'eau ou l'augmentation des interactions agonistiques (Siddiqui *et al.*, 1989; Boujard *et al.*, 2002; Ruane *et al.*, 2002; Foss *et al.*, 2003; Bolasina *et al.*, 2006; Papoutsoglou *et al.*, 2006). Ces deux facteurs peuvent toutefois provoquer une réduction de la croissance sans que les poissons ne subissent un réel stress, comme cela a été observé chez la truite arc-en-ciel, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) (Boujard *et al.*, 2002; Ellis *et al.*, 2002).

Une forte densité peut nuire à l'alimentation des poissons et ultimement à leur croissance, et ce même en l'absence d'interactions agressives. Détecter et atteindre les particules de nourriture peut s'avérer difficile lorsqu'un trop grand nombre de congénères bloquent la vue et le passage (Ellis *et al.*, 2002; Schram *et al.*, 2006). Des comportements agressifs conduisant à la formation d'une hiérarchie par taille sont cependant généralement associés à ce phénomène de compétition alimentaire. Les individus dominants empêchent les autres de se nourrir ce qui génère une grande variabilité dans les performances de croissance (Jobling, 1995; North *et al.*, 2006). La variabilité dans les tailles augmente d'ailleurs souvent avec la densité (Rubenstein, 1981; Irwin *et al.*, 1999; Papoutsoglou *et al.*,



2006; Schram *et al.*, 2006) et il apparaît que l'effet causé par cette dernière diffère grandement d'un individu à l'autre (Kristiansen *et al.*, 2004). L'accroissement des interactions sociales est souvent considéré comme la cause principale de la baisse de croissance des poissons maintenus à densité élevée (Wedemeyer, 1997; Wendelaar-Bonga, 1997; Sloman *et al.*, 2000). Il est cependant difficile, comme le font remarquer Barton & Iwama (1991), de savoir qui des changements métaboliques liés au stress, comme les modifications dans les concentrations d'enzymes, d'hormones et de facteurs de croissance, ou des changements de la consommation alimentaire et des interactions sociales, sont vraiment responsables des variations de croissance reliées à la densité.

Une hausse de l'incidence des maladies due à un plus grand nombre de blessures, en particulier l'érosion des nageoires, constitue une conséquence négative souvent rapportée à forte densité (Ellis *et al.*, 2002; Ashley, 2007). Tout comme pour l'alimentation, cela peut résulter d'interactions agressives directes (Ashley, 2007), mais ce n'est pas toujours le cas. En effet, plus la densité est élevée, plus le risque de blessures par contact involontaire avec d'autres individus ou avec les parois du bassin est important (Ellis *et al.*, 2002).

Chez certaines espèces, dont celles habituées à vivre en banc, une densité élevée est préférable puisque cela diminue les agressions entre individus (Papoutsoglou *et al.*, 2006; Ashley, 2007). Le niveau de stress et la croissance deviennent donc sous optimaux à faible densité. Cela a notamment été observé chez la truite arc-en-ciel (Ellis *et al.*, 2002; North *et al.*, 2006), le bar commun, *Dicentrarchus labrax* L. (Papoutsoglou *et al.*, 1998) et particulièrement documenté chez l'omble chevalier (Wallace *et al.*, 1988; Baker et Ayles,

1990; Brown *et al.*, 1992; Jorgensen *et al.*, 1993). À faible densité, les interactions agonistiques sont souvent plus sévères et la hiérarchisation plus importante puisque les poissons ont plus d'espace pour exprimer ces comportements, ce qui résulte en une réponse alimentaire moindre et un plus grand risque de blessures chez les subordonnés (Ellis *et al.*, 2002; El-sayed, 2002). De plus, il apparaît plus difficile pour les poissons qui détectent leur nourriture à la vue de localiser les particules alimentaires sans le mouvement dans la bonne direction d'un grand nombre de congénères (El-sayed, 2002; Stoner & Ottmar, 2004). Il a également été supposé que lorsque la compétition ressentie est faible, comme cela peut être le cas à faible densité chez les espèces peu agressives, la prise alimentaire et l'efficacité de conversion diminuent (El-sayed, 2002; Stoner & Ottmar, 2004; Gomes *et al.*, 2006). Quelle que soit la cause exacte des effets bénéfiques de l'entassement chez certains poissons, il existe évidemment une limite au-delà de laquelle une forte densité redevient néfaste (Ellis *et al.*, 2002). Ainsi, un intervalle de densités intermédiaires constitue l'optimum pour chaque situation d'élevage, mais les valeurs en masse ou en nombre d'individus qui y correspondent sont extrêmement variables et dépendent de la biologie particulière à chacune des espèces et même de l'âge des spécimens cultivés (Huang & Chiu, 1997; Ashley, 2007).

Ayant obtenu un poids moyen final 10 % plus élevé chez de jeunes loups tachetés (400-900 g) initialement à 25 kg·m<sup>-2</sup> que chez d'autres initialement à 40 kg·m<sup>-2</sup> (densités finales de 42 et 59 kg·m<sup>-2</sup>), Jonassen (2002) a conclu, vu la faible différence de poids, que la densité optimale pour les juvéniles de cette espèce se situait entre 40 et 60 kg·m<sup>-2</sup>. Chez les adultes (1,5 à 5 kg), la densité optimale se retrouverait plutôt entre 90 et 110 kg·m<sup>-2</sup>.

puisque Solbakken (données non publiées, cité par Foss *et al.*, 2004) a constaté une croissance plus importante à 70 qu'à 110 kg·m<sup>-2</sup> alors qu'Imsland *et al.* (2009) ont observé des performances également satisfaisantes chez des loups tachetés maintenus à 50, 70 et 90 kg·m<sup>-2</sup>. Chez le loup, comme chez les autres espèces de poissons benthiques aquacoles, notamment les poissons plats, les densités d'élevage sont représentées en termes de biomasse par surface plutôt que par volume.

### 1.3 Stress

Le stress se définit comme la condition d'un organisme dont l'équilibre dynamique, ou homéostasie, est menacé ou perturbé par l'action de stimuli intrinsèques ou extrinsèques (Chrousos & Gold, 1992, cité par Wendelaar Bonga, 1997). Il agit à trois échelles différentes. La première implique, chez les poissons, la stimulation de l'axe hypothalamo-pituitaire-interrénal (HPI) [équivalent de l'axe hypothalamo-pituitaire-surrénal (HPA) chez les mammifères (Metz *et al.*, 2006)] qui relâche l'hormone adrénocorticotrope (ACTH). Celle-ci stimule les tissus interrénaux à sécréter les corticostéroïdes, dont le cortisol, fréquemment employé pour mesurer la réponse au stress (Donaldson, 1981; Schreck, 1981; Wedemeyer *et al.*, 1990; Barton & Iwama, 1991; Wendelaar Bonga, 1997; Barton, 2002). La réponse secondaire est induite par la réponse primaire et s'exprime par des changements au niveau des paramètres métaboliques, sanguins, structuraux et hydrominéaux (Barton & Iwama, 1991). Ainsi, une élévation du glucose [très faible (Lays *et al.*, 2009), voire non détectable chez le loup (S. Lamarre, données non publiées)] et du lactate [non détectable chez le loup (S. Lamarre, données non publiées)], des variations de l'hématocrite, de l'indice hépato-somatique et de la quantité totale de protéines de même que des

changements de taille au niveau des cellules interrénales sont quelques uns des indices de stress secondaire pouvant être évalués chez les poissons (Wedemeyer *et al.*, 1990; Barton & Iwama, 1991; Barton, 2002). Une augmentation de la perméabilité des branchies occasionnant des échanges d'eau et d'ions  $\text{Na}^+$  et  $\text{Cl}^-$  plus importants (Mazeaud *et al.*, 1977; Wendelaar Bonga, 1997) est également possible. Cela résulte, chez les espèces marines comme le loup, en une augmentation de l'osmolalité et des concentrations d'ions puisque plus d'ions entrent et qu'une plus grande quantité d'eau sort, alors que le contraire est observé chez les poissons dulcicoles. La réponse tertiaire au stress considère tous les impacts à long terme comme les effets sur la croissance, le taux métabolique, la résistance aux maladies, la reproduction et la capacité à tolérer des stress additionnels (Wedemeyer *et al.*, 1990; Barton & Iwama, 1991; Wendelaar Bonga, 1997). L'activité des lysozymes plasmatiques, des composants humoraux du système de défense non-spécifique (Magnadottir, 2006), constitue un indicateur potentiel de l'effet du stress sur l'immunité. Un stress de courte durée résulte généralement en une augmentation de l'activité des lysozymes plasmatiques alors qu'un stress plus important provoque plutôt une baisse de ce paramètre (Möck & Peters, 1990; Demers & Bayne, 1997; Maricchiolo *et al.*, 2008).

La réponse au stress est propre à chaque espèce et peut même varier en fonction de l'âge et du stade de vie (Wendelaar Bonga, 1997; Ramsay *et al.*, 2006). Même si plusieurs sources de stress sont inévitables en aquaculture, connaître les particularités de chaque espèce cultivée est important afin d'adapter les pratiques et d'assurer un minimum de stress aux animaux (Ashley, 2007).

Face à une menace, un organisme peut s'acclimater aux perturbations ou du moins les tolérer (Schreck *et al.*, 2001; Ashley, 2007) en redirigeant l'énergie des processus de croissance et de reproduction vers le maintien de l'homéostasie (Wendelaar Bonga, 1997). La réponse au stress est normale et n'est pas nécessairement associée à une souffrance. À court terme, elle assure la survie de l'individu (Ashley, 2007). Au-delà d'un certain seuil, elle devient toutefois dangereuse pour la santé du poisson, entre autres parce qu'un haut taux de cortisol supprime l'effet du système immunitaire (Wendelaar Bonga, 1997).

Des stress soudains, associés par exemple à la réduction du niveau de l'eau pour le nettoyage, au changement de bassins ou au tri des poissons par taille, autant que chroniques, comme le maintien à de hautes densités ou l'accumulation de perturbations répétées, sont constamment rencontrés dans les conditions d'élevage (Ruane *et al.*, 2002; Varsamos *et al.*, 2006). Alors que la réponse à un stress de courte durée est considérée comme une acclimatation, celle liée à un stress chronique montre généralement une difficulté à s'acclimater et peut conduire à une réduction de la croissance, un affaiblissement du système immunitaire et une perte des fonctions reproductives (Barton & Iwama, 1991; Wendelaar Bonga, 1997; Schreck *et al.*, 2001; Ellis *et al.*, 2002; Ashley, 2007). L'acclimatation à un stress chronique tel que le maintien à haute densité a toutefois été observée chez plusieurs poissons (Pickering & Stewart, 1984; McEwen, 1998; Haukenes & Barton, 2004).

L'exposition à un stress de longue durée pouvant modifier la capacité de réponse à un stress soudain (Wendelaar Bonga, 1997; McEwen, 1998), l'impact de stress additionnels

sur des poissons déjà chroniquement stressés se doit d'être étudié (Ruane *et al.*, 2002). L'interaction entre ces deux types de stress est fréquente en aquaculture, par exemple lorsque des poissons maintenus à une forte densité doivent être transportés, pesés ou transférés de bassin dû à un tri de taille (Ruane *et al.*, 2002). Une hausse (Barcellos *et al.*, 1999) de même qu'une inhibition partielle (Haukenes & Barton, 2004; Barton *et al.*, 2005) de la réponse à un stress soudain peuvent être rencontrées chez des poissons maintenus à de fortes densités. Une réponse accrue pourrait s'expliquer par une rupture de la hiérarchie en place causée par le nouveau stress puisque l'effet néfaste des interactions agonistiques lors du rétablissement de la hiérarchie serait plus marqué à haute densité (Barcellos *et al.*, 1999). À l'opposé, une baisse de sensibilité des tissus interréniaux à la stimulation par l'ACTH (Rotllant *et al.*, 2000) ou une constante rétroaction négative du cortisol sur l'axe HPI (Wendelaar Bonga, 1997, Barton *et al.*, 2005) pourraient être responsables de la réponse réduite à un stress subséquent chez des individus soumis à un stress chronique.

La réponse au stress présente également une grande variabilité interindividuelle (Wendelaar Bonga, 1997; Barton, 2002; Ramsay *et al.*, 2006) qui provient d'une part de la position dans la hiérarchie (Ramsay *et al.*, 2006) et d'autre part du bagage génétique (Ramsay *et al.*, 2006; Trenzado *et al.*, 2006). Des différences dans le degré de réponse ont en effet été démontrées entre les lignées chez plusieurs espèces de salmonidés (Refstie, 1986; Pickering & Pottinger, 1989; McGeer *et al.*, 1991; Pottinger *et al.*, 1992).

Le loup tacheté, sans doute en raison de son mode de vie de prédateur sédentaire, apparaît peu stressé comparé à la majorité des téléostéens (Lays *et al.*, 2009). Bien qu'ayant

une capacité élevée à synthétiser du cortisol, la hausse observée lors d'un stress soudain est lente et plutôt modérée. Un effet cumulatif semble toutefois possible puisque la manipulation d'individus en condition d'hypoxie provoque une augmentation plus marquée du cortisol que la seule manipulation ou même qu'une immersion à l'air (Lays *et al.*, 2009).

#### 1.4 Objectifs et hypothèses

Dans une perspective de développement de la production commerciale du loup tacheté dans l'est du Québec, ce projet vise à déterminer la densité optimale d'élevage, c'est-à-dire la densité qui maximise la biomasse sans nuire à la croissance, chez des juvéniles de 50 à 200 g. Cette étude se veut également une évaluation de la réponse au stress chez le loup tacheté, sachant que le niveau de bien-être du poisson est crucial dans un élevage intensif qui se veut rentable et efficace. Ainsi, le chapitre 2 : « Effect of rearing density on the growth and welfare indices of juvenile spotted wolffish, *Anarhichas minor* (Olafsen) (Tremblay-Bourgeois *et al.*, in press) » permet d'établir des barèmes de densité à respecter pour les jeunes loups et d'évaluer leur tolérance à des densités élevées tant du point de vue de la croissance que de celui du bien-être, grâce à différents indicateurs de stress secondaire et de l'immunité.

Les observations antérieures réalisées dans nos installations de même que les travaux de Jonassen (2002) permettent de croire qu'aucun impact ne sera visible à des densités d'élevage inférieures ou égales à  $40 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-2}$ , mais que des conséquences négatives mineures sur la croissance et le niveau de bien-être des loups tachetés juvéniles sont à prévoir au-delà de ce seuil.

## CHAPITRE 2

### EFFECT OF REARING DENSITY ON THE GROWTH AND WELFARE INDICES OF JUVENILE SPOTTED WOLFFISH, *ANARHICHAS MINOR* (OLAFSEN)

Tremblay-Bourgeois *et al.*, in press

#### 2.1 Abstract

The goal of this study was to determine the optimal stocking density for rearing juvenile spotted wolffish, *Anarhichas minor* (Olafsen) at two different sizes and assess the welfare status in relation to density. No major growth impairment was observed, although smaller fish (50-100 g) were significantly affected by density during the 120 days of the experiment, with final mean weights of  $119.6 \pm 11.6$ ,  $118.0 \pm 5.8$  and  $88.7 \pm 0.6$  g for initial rearing densities of 10, 20 and  $40 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-2}$ , respectively. No effect of rearing density was seen for larger fish (100-160 g) during the 90 days of the experiment, with final mean weights of  $160.2 \pm 5.9$ ,  $159.7 \pm 3.7$  and  $163.7 \pm 11.5$  g at fixed rearing densities of 20, 30 and  $40 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-2}$ , respectively. Our results suggest that the optimal rearing density of juvenile spotted wolffish is below  $40 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-2}$  for smaller size fish ( $\sim 50$ -100 g) and probably  $\geq 40 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-2}$  for the larger fish (100-160 g). Furthermore, it appears that the range of rearing density used did not have a significant effect on a selection of stress indicators ( $\text{Na}^+$  and  $\text{K}^+$  concentration, haematocrit, hepatosomatic index, total amount of plasma proteins and liver



and muscle water content) and immunity response (plasma lysozyme activity) of juvenile spotted wolffish, making it a very tolerant species to crowding.

## 2.2 Introduction

An optimal rearing density is of primary importance for intensive cost-efficient aquaculture operations. In addition to productivity concerns, there is increasing public concern for the welfare of cultured animals. Optimal density is thus a critical factor for both productivity and fish welfare, and is recognized as a research priority (Ellis *et al.*, 2002; Ashley, 2007).

The optimal density is a compromise between rapid growth and maximum occupation of available tank space (Gomes *et al.*, 2006). At high densities, profitability may be affected by depressed growth and chronic stress, while stocking at low densities wastes space (Rahman *et al.*, 2005; Abou *et al.*, 2007). Food conversion efficiencies and growth rates (GR) are often maximised at lower densities, while biomass and productivity are enhanced at higher densities (Ellis *et al.*, 2002). Optimal rearing density is highly species specific (Boujard *et al.*, 2002; Ashley, 2007) and varies with age and life stage (Jørgensen *et al.*, 1993; Huang & Chiu, 1997). It is therefore essential to evaluate this parameter for every species used in aquaculture and to cover a wide range of sizes.

Spotted wolffish, *Anarhichas minor* (Olafsen) is a promising species for cold-water aquaculture (Le François *et al.*, 2002; Foss *et al.*, 2004). It has several advantages for establishing an economically feasible industry, including a high specific growth rate (SGR),

a high tolerance to water quality variation, easily weaned large fry, few disease problems and non-aggressive behaviour (Falk-Petersen *et al.*, 1999; Foss *et al.*, 2004; Laflamme *et al.*, 2004). Data on rearing density are especially important because commercial wolffish production in Quebec (Canada) will most likely involve land-based operations, due to environmental concerns and climatic conditions [extensive ice coverage precludes the use of sea cages (Le François & Blier, 2003)]. As for other demersal species of aquaculture interest (e.g., flatfishes), rearing density in spotted wolffish is mostly measured in terms of biomass per surface area rather than volume.

Either the number of fish or the tank size can be kept constant between density treatments in growth studies. On the one hand, different numbers of fish in different tanks can influence the establishment of social structure, which have been shown to affect growth response in various species independent of density (Jobling, 1995; Irwin *et al.*, 1999; Bolasina *et al.*, 2006, Papoutsoglou *et al.*, 2006). On the other hand, varying tank size can affect growth directly (Holm *et al.*, 1996, cited by Kristiansen *et al.*, 2004). It was decided to keep the number of fish constant between treatments instead of the available surface area because previous observations in our facilities suggested that social interactions can be important in captive spotted wolffish populations.

To date, few studies have been conducted on the optimal rearing densities of this species. According to J. Solbakken (unpubl. obs., cited by Foss *et al.*, 2004) and Imsland *et al.* (2009), adult spotted wolffish (1.5-5 kg) can be raised at densities as high as  $90 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-2}$  without detrimental effects, but a growth reduction is expected at  $110 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-2}$ . Jonassen

(2002) found that 400-900 g juveniles appear to be less tolerant of crowding than adults. The author reared spotted wolffish at initial densities of 25 and 40 kg·m<sup>-2</sup> (final densities of 42 and 59 kg·m<sup>-2</sup>) and found that growth was 10% better at 25 kg·m<sup>-2</sup>.

More information is needed on the stress response of the spotted wolffish in intensive aquaculture operations to prevent disease outbreaks, reduce losses and abide with fish welfare regulations (Ellis *et al.*, 2002; Ashley, 2007). The primary stress response is the initial neuroendocrine response of an organism to a stressor (Barton, 2002). It includes the release of catecholamines and corticosteroids (Barton & Iwama, 1991; Wendelaar Bonga, 1997; Barton, 2002). The primary stress response induces a secondary response involving metabolic, haematological, hydromineral and structural changes. Haematocrit (Hct), ion concentrations, total plasma proteins, hepatosomatic index (HSI) and water content, among others, can be used as secondary stress indicators (Barton & Iwama, 1991). The tertiary stress response involves longer-term effects on growth, health and reproduction (Wedemeyer *et al.*, 1990; Barton & Iwama, 1991; Wendelaar Bonga, 1997).

A chronic stress such as prolonged exposure to crowded conditions can cause an acclimatization or a cumulative negative impact (McEwen, 1998; Haukenes & Barton, 2004), and may also modify the organism's capacity to respond to an additional stressor (Wendelaar Bonga, 1997; McEwen, 1998) by partial suppression of the immunity response, which can be measured to some extent by the activity of plasma lysozyme (Möck & Peters, 1990; Demers & Bayne, 1997). To our knowledge, this is the first study looking at the secondary stress and immunity response in relation to density for this species.

The objectives of this study were twofold: firstly, to identify the rearing density at which growth for small juvenile wolffish (initial sizes of 50 and 100 g) is maximised, and secondly, to contribute to the assessment of wolffish welfare under intensive cultivation conditions, by examining secondary stress indicators and immunity response. A first exploratory experiment was conducted to locate the optimal density range (**Experiment I**). Initial densities of 10, 20 and 40 kg·m<sup>-2</sup>, in duplicate, were allowed to increase as the fish grew. Subsequently, **Experiment II** was designed to identify the ideal rearing density using triplicates at fixed densities of 20, 30 and 40 kg·m<sup>-2</sup>.

## 2.3 Material and methods

The fish used for these experiments were offspring of wild adults captured from Canadian waters and reared as captive broodstock at the Centre Aquacole Marin (Grande-Rivière, QC, Canada). Protocols were approved by the APC-UQAR, the university Animal Protection Committee.

### 2.3.1 Experiment I (increasing densities): 50-100 g

Juvenile wolffish (n = 199) were individually tagged with electronic microchips (12 mm Musicc Fecava, Avid Canada) and acclimatized to the experimental tanks for 1 month at a density of 10 kg·m<sup>-2</sup>. They were then randomly distributed among six tanks (between 32 and 34 fish per tank) at initial densities of ~ 10, 20 and 40 kg·m<sup>-2</sup> [tank volume ( $L \times W \times D$ ), respectively ~ 44.5 × 36.5 × 14 cm, 24.5 × 36.5 × 14 cm and 11 × 36.5 × 27 cm, n = 6]. Densities were allowed to increase as the fish grew to cover a wider range of densities. An adjustable plastic screen allowing water exchange was placed inside each tank to adjust

the length and obtain the desired density. The trial lasted for 120 days. Fish were measured (wet weights and total lengths) at the start of the experiment ( $51.6 \pm 21.9$  g,  $18.6 \pm 2.5$  cm) and on days 30, 59 and 120. Fish were not fed for 2 days before sampling was conducted, a reasonable fasting period since the average intestinal transit time for the close relative Atlantic wolffish, *Anarhichas lupus* L., is approximately 15 hours (Le François *et al.*, 2004). To facilitate handling, fish were anaesthetised directly in the tanks by adding benzocaine (ethyl 4-aminobenzoate, Sigma E1501, St. Louis, Missouri, USA) to the water at a concentration of  $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ . Condition factors (CF) and SGR were calculated for each individual fish.

Blood samples were also taken of three fish per tank on days 0, 15 and 30 from the caudal vein with a sodium heparinised hypodermic syringe. Blood was kept on ice prior to centrifugation at  $1100 \text{ g}$  for  $10 \text{ min}$  at  $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ . Plasma was stored at  $-80 \text{ }^{\circ}\text{C}$ . Plasma concentrations of  $\text{Na}^{+}$  and  $\text{K}^{+}$  were determined using an automatic ion chromatograph (model ICS-3000, Dionex, Oakville, ON, Canada).

Condition factors were calculated as  $\text{CF} = 100 \times (\text{W}/\text{L}_T^3)$ , where W is the weight of the fish (g) and  $\text{L}_T$  is its total length (cm). Specific growth rates were calculated as  $\text{SGR} = 100 \times (\ln \text{W}_2 - \ln \text{W}_1) / (t_2 - t_1)$ , where  $\text{W}_1$  and  $\text{W}_2$  are the weights of individual fish at times  $t_1$  and  $t_2$ .

Fish were kept under a 12-h light:12-h dark artificial photoperiod. They were fed in excess three times a week, previously determined in our facilities to be sufficient for

wolffish of this size, with formulated feed (3 or 4 mm, Skretting Bayside, NB, Canada) containing 55% protein and 15% fat. Temperature, dissolved oxygen saturation and salinity were monitored daily (YSI Dissolved Oxygen Meter, with multiprobe 85/10 FT, Yellow Springs, Ohio, USA). Means ( $\pm$  SD) were  $8.3 \pm 0.8$  °C,  $84 \pm 6\%$  and  $28.7 \pm 1.1$  g·L<sup>-1</sup>, respectively. Nitrite and total ammonia nitrogen (TAN) concentrations were measured weekly using commercial kits (HACH, Loveland, CO, USA) and remained low (NO<sub>2</sub>:  $0.022 \pm 0.016$  mg·L<sup>-1</sup>; TAN:  $0.14 \pm 0.06$  mg·L<sup>-1</sup>) throughout the experiment.

### **2.3.2 Experiment II (fixed densities): 100-160 g**

A total of 189 untagged fish were divided in nine groups of 21 individuals and stocked at  $20 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-2}$  for a 1-month acclimatization period in the experimental tanks ( $n = 9$ ). At the beginning of the experiment, fish were measured ( $95.5 \pm 41.3$  g,  $21.2 \pm 2.7$  cm) and randomly distributed among nine raceways, one per group, to yield densities of  $\sim 20$ , 30 and  $40 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-2}$  in triplicate (tank volume, respectively  $\sim 26.5 \times 38 \times 16$  cm,  $18 \times 38 \times 16$  cm and  $13 \times 38 \times 16$  cm). As for experiment I, adjustable plastic screens were used to obtain adequate lengths and fixed densities. Individual wet weights and total lengths were measured on days 29, 59 and 90 of the experiment and densities were then readjusted to initial values by moving the adjustable screens. Specific growth rates could not be calculated because fish were not individually tagged and so mean GR were calculated. Fish were not fed for two days before measurement and anesthetised with a  $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  benzocaine solution. Tanks were supplied with flow-through water ( $6 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ ) at a temperature of  $7.9 \pm 0.8$  °C, a dissolved oxygen of  $95 \pm 4\%$  and a salinity of  $26.6 \pm 1.4$  g·L<sup>-1</sup>. Fish were kept under a 12-h light:12-h dark artificial photoperiod and fed in excess

three times a week with formulated feed (4 mm, Skretting) containing 55% protein and 15% fat. Nitrite and TAN concentrations remained low ( $0.013 \pm 0.009 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  and  $0.09 \pm 0.02 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , respectively) throughout the experiment. The growth part of Experiment II was terminated at day 90 when fish weighed on average 160 g because at day 117, failure of the water cooling system caused the death of 87 fish in total (temperature increased from 8.5 to 18 °C).

The surviving fish showed normal growth and feeding behaviour within 2 weeks. After 6 months at the three different rearing densities, stress and immune response were evaluated. On day 186, four fish per tank were individually netted, avoiding any disturbance to the remaining fish, held in the air for 60 seconds (Acerete *et al.*, 2004) to mimic aquaculture handling and placed in a different tank. After 60 min, these individuals were anaesthetised with a  $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  benzocaine solution. The remaining wolffish were anaesthetised directly in the tank on day 187. Four fish from each tank were immediately sampled to establish baseline values for unstressed fish at the three densities. Blood samples were taken from the caudal vein with a sodium heparinised hypodermic syringe. Haematocrit was measured using a Hct centrifuge (3 min at 13 858 g, Jouan industries S.A.S., Château-Gontier, France) and blood was centrifuged to obtain plasma, which was stored at - 80 °C until assessment of total proteins (TP) and lysozyme activity. Fish were killed by a blow to the head. Livers were removed and weighted to calculate the hepatosomatic index ( $\text{HSI} = 100 \times (\text{LW} / \text{W})$ , where LW is the wet liver weight and W is the total wet weight of the fish). A piece of muscle and liver were also collected and dried

in a oven (Model 287, Despatch oven co., Minneapolis, MN, USA) at 60 °C for 72 hours to evaluate the water content.

Plasma lysozyme activity was evaluated according to Shugar (1952), using a spectrophotometer (model Lambda 40 UV/Vis, PerkinElmer instruments, Norwalk, CT, USA). The decrease in absorbance at 450 nm was recorded between 12 and 90 seconds after 10 µl of wolffish plasma was added to 290 µL of a *Micrococcus lysodeikticus* (Sigma) suspension (10 mg/100 ml). A standard curve, in which one unit of lysozyme activity was defined as the amount of enzyme that caused absorbance to decrease of  $0.001 \cdot \text{min}^{-1}$ , was obtained using hen egg-white (HEW) lysozyme (Sigma). Lysozyme activity was expressed as units per mg of TP. The acid bicinchoninic method (Smith *et al.*, 1985) was used to measure TP.

### 2.3.3 Statistical analyses

The data were tested for normality of distribution and homoscedasticity with Kolmogorov-Smirnov and Levene tests. Data from replicate tanks in Experiment I were pooled and the effects of rearing density and time of measurement on weights, lengths, CFs and SGRs were evaluated using non-parametric Scheirer-Ray-Hare tests. Weight data distribution, in particular, presented a significant right skewness ( $\alpha_3 = 1.6$ ) throughout the experiment. Differences in  $\text{Na}^+$  and rank transformed  $\text{K}^+$  concentration were evaluated with a nested three-way analysis of variance (ANOVA). Nested three-way ANOVAs were used in Experiment II to test the effects of rearing density and time of measurement on log transformed weight and length while a Scheirer-Ray-Hare test was used for CF (pooled



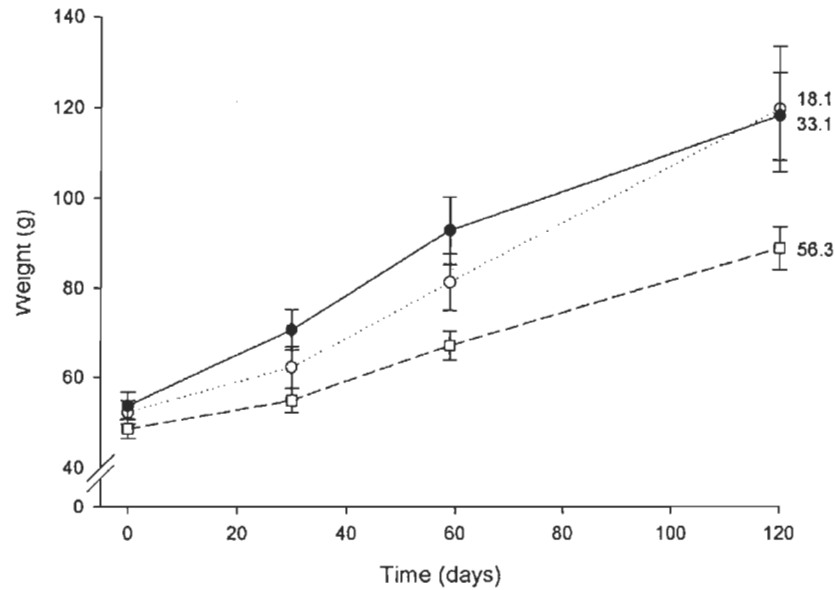
values of replicate tanks). The mean GR were analysed using a nested three-way ANOVA. Log-transformed Hct, HSI, log-transformed TP, log-transformed liver water content, rank-transformed muscle water content and lysozyme activity values were all compared with nested three-way ANOVAs. Bonferroni's corrections were applied for non-parametric analyses. When significant differences were observed using ANOVAs, Tukey *post-hoc* tests with Bonferroni's correction were applied. Dunn's multiple comparison tests were used when a non-parametric Scheirer-Ray-Hare test detected a significant difference. Treatments were considered to be significantly different when  $p < 0.05$ . All statistical analyses were performed using Systat 11 software. Results are shown as mean  $\pm$  standard error, calculated using the variability from both fish and replicate tanks when applicable.

## 2.4 Results

### 2.4.1 Experiment I (increasing densities): 50-100 g

At the end of the experiment, densities had increased by 69%, 64% and 41% for tanks initially stocked at 10, 20 and 40  $\text{kg}\cdot\text{m}^{-2}$ , respectively (Table 1).

Growth was significantly affected by density ( $H_2 = 44.014$ ,  $p < 0.001$  for weight,  $H_2 = 37.931$ ,  $p < 0.001$  for length), with fish initially at 40  $\text{kg}\cdot\text{m}^{-2}$  having the lowest weight and length gain throughout the experiment compared with those at 10 and 20  $\text{kg}\cdot\text{m}^{-2}$  (Fig. 1, Table 1). Final mean weights of  $119.6 \pm 11.6$ ,  $118.0 \pm 5.8$  and  $88.7 \pm 0.6$  g were obtained at densities of 10, 20 and 40  $\text{kg}\cdot\text{m}^{-2}$ , respectively. The variation in weights, as shown by



**Figure 1** Weight gain (mean,  $g \pm SE$ ) over 120 days at three different increasing rearing densities [10 ( $\circ$ ), 20 ( $\bullet$ ) and 40  $kg \cdot m^{-2}$  ( $\square$ )] for 50-100 g spotted wolffish (Experiment I). Numbers represent measured densities in  $kg \cdot m^{-2}$  after 120 days

standard errors (Fig. 1), were elevated and increased with time. The variation was always higher at 10 and 20  $kg \cdot m^{-2}$  than at 40  $kg \cdot m^{-2}$ .

There was a significant difference in CF between densities ( $H_2 = 89.008$ ,  $p < 0.001$ ). Fish initially at 40  $kg \cdot m^{-2}$  had the lowest CF throughout the experiment (Table 1). Condition factors generally increased during the first half of the trial, but after 59 days, this parameter increased in the 10  $kg \cdot m^{-2}$  groups (measured density of 13.5  $kg \cdot m^{-2}$  after 59 days), but decreased in the 20 (measured density of 30.6  $kg \cdot m^{-2}$  after 59 days) and 40  $kg \cdot m^{-2}$  groups (measured density of 45.3  $kg \cdot m^{-2}$  after 59 days).

**Table 1** Growth parameters (mean  $\pm$  SE) at every time of measurement for 50-100 g spotted wolffish raised at three different increasing rearing densities (Experiment I). Means with different superscript letters denote significant differences for the interaction between densities and times of measurement

Parameter	Initial density ( kg·m <sup>-2</sup> )	Time of measurement (number of days)			
		0	30	59	120
Measured density (kg·m <sup>-2</sup> )	10	10.65 $\pm$ 0.35	10.60 $\pm$ 0.90	13.50 $\pm$ 0.90	18.05 $\pm$ 1.55
	20	20.15 $\pm$ 0.15	24.90 $\pm$ 1.10	30.60 $\pm$ 1.40	33.05 $\pm$ 3.05
	40	40.00 $\pm$ 0.10	41.65 $\pm$ 1.15	45.25 $\pm$ 0.65	56.30 $\pm$ 1.10
Length (cm)	10	18.6 $\pm$ 0.3	19.2 $\pm$ 0.4	20.8 $\pm$ 0.4	23.1 $\pm$ 0.7
	20	18.9 $\pm$ 0.4	19.7 $\pm$ 0.4	21.3 $\pm$ 0.4	23.5 $\pm$ 0.5
	40	18.5 $\pm$ 0.3	18.8 $\pm$ 0.3	19.8 $\pm$ 0.3	21.7 $\pm$ 0.3
CF	10	0.78 $\pm$ 0.01 <sup>ac</sup>	0.85 $\pm$ 0.01 <sup>bc</sup>	0.86 $\pm$ 0.01 <sup>bc</sup>	0.91 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>
	20	0.75 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	0.85 $\pm$ 0.01 <sup>bc</sup>	0.87 $\pm$ 0.01 <sup>bd</sup>	0.84 $\pm$ 0.01 <sup>bc</sup>
	40	0.74 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	0.80 $\pm$ 0.01 <sup>cd</sup>	0.84 $\pm$ 0.02 <sup>bc</sup>	0.83 $\pm$ 0.01 <sup>bc</sup>
SGR (%·day <sup>-1</sup> ) <sup>1</sup>	10	---	0.73 $\pm$ 0.09 <sup>ac</sup>	0.84 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>	0.61 $\pm$ 0.14 <sup>abc</sup>
	20	---	0.88 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	0.90 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	0.34 $\pm$ 0.12 <sup>b</sup>
	40	---	0.40 $\pm$ 0.04 <sup>bc</sup>	0.64 $\pm$ 0.09 <sup>abc</sup>	0.44 $\pm$ 0.03 <sup>bc</sup>

<sup>1</sup>Overall SGR (0-120) are 0.71  $\pm$  0.08, 0.62  $\pm$  0.02 and 0.50  $\pm$  0.02 %·day<sup>-1</sup> at 10, 20 and 40 kg·m<sup>-2</sup>, respectively.

**Table 2** Ion concentrations (mean  $\pm$  SE) at days 0, 15 and 30 for 50-100 g juvenile spotted wolffish raised at three different increasing rearing densities (Experiment I)

Ion	Initial density	Time of measurement (number of days)		
Concentrations	( $\text{kg}\cdot\text{m}^{-2}$ )	0	15	30
$\text{Na}^+$ ( $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ )	10	$180.88 \pm 12.26$	$181.7 \pm 11.52$	$182.65 \pm 7.68$
	20	$178.00 \pm 4.83$	$185.73 \pm 3.96$	$178.24 \pm 12.31$
	40	$176.08 \pm 7.29$	$185.20 \pm 5.23$	$178.10 \pm 4.19$
$\text{K}^+$ ( $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ )	10	$3.90 \pm 0.28$	$3.77 \pm 0.28$	$4.28 \pm 0.16$
	20	$4.05 \pm 0.28$	$3.73 \pm 0.26$	$4.56 \pm 0.55$
	40	$3.92 \pm 0.28$	$4.08 \pm 0.47$	$3.89 \pm 0.32$

Specific growth rate changed significantly during the experiment ( $H_2 = 56.138$ ,  $p < 0.001$ ), with the lowest values obtained between days 59 and 120 and the highest ones between days 30 and 59 (Table 1). The effect of density on SGR was significant ( $H_2 = 33.518$ ,  $p < 0.001$ ). Fish initially at  $40 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-2}$  had the lowest SGR for the first 59 days.

Ion concentrations did not vary significantly between days 0, 15 and 30 ( $F_{2,6} = 1.733$ ,  $p = 0.255$  for  $\text{Na}^+$  and  $F_{2,6} = 1.260$ ,  $p = 0.349$  for  $\text{K}^+$ ) or among densities ( $F_{2,3} = 0.003$ ,  $p = 0.997$  for  $\text{Na}^+$  and  $F_{2,3} = 0.110$ ,  $p = 0.899$  for  $\text{K}^+$ , Table 2).

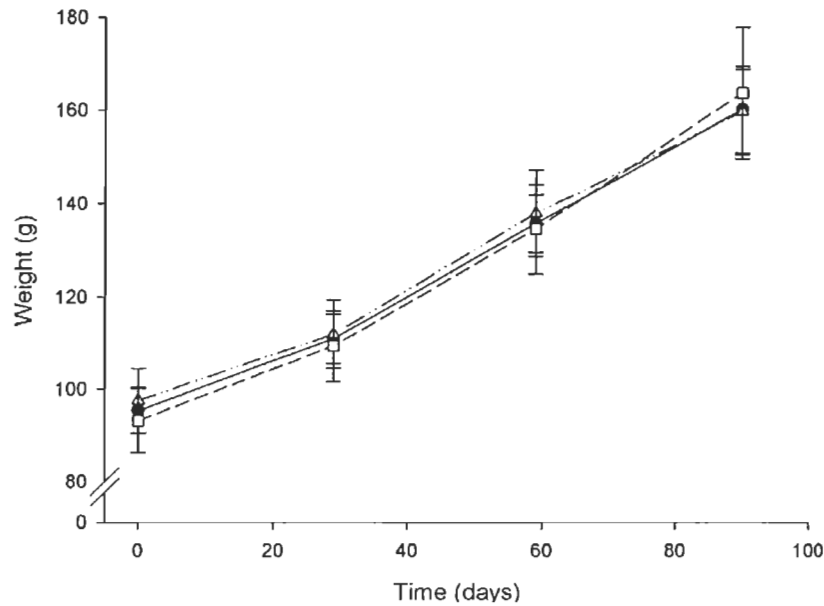
### 2.4.2 Experiment II (fixed densities): 100-160 g

There were no differences in growth among the three rearing densities (final mean weights of  $160.2 \pm 5.9$ ,  $159.7 \pm 3.7$  and  $163.7 \pm 11.5$  g at densities of 20, 30 and 40 kg·m<sup>2</sup>, respectively,  $F_{2,6} = 0.048$ ,  $p = 0.953$ , Fig. 2). The variation in weights, as shown by standard error (Fig. 2), was elevated at the start of the experiment and increased with time.

Differences in CF were noted among tanks during the experiment. There was a general decline after 29 days, followed by an increase at days 59 and 90 (Table 3), resulting in a significant effect of time of measurement ( $H_3 = 557.629$ ,  $p < 0.001$ ). There was no meaningful effect of rearing density on CF.

There was a trend indicating that GR changed with the time of measurement ( $F_{2,12} = 3.675$ ,  $p = 0.057$ ), with higher rates observed for the interval from days 29 to 59. There were no differences among groups raised at 20, 30 and 40 kg·m<sup>-2</sup> for this parameter (Table 3).

Fish reared at the three densities had similar Hct values ( $F_{2,6} = 0.201$ ,  $p = 0.823$ ). This variable was, however, significantly higher after stress induction in comparison with the baseline values obtained for all densities ( $F_{1,6} = 6.774$ ,  $p = 0.041$ , Table 4). The total amount of plasma proteins increased significantly after the stress induction procedures ( $F_{1,6} = 14.652$ ,  $p = 0.009$ ), but did not vary among the three rearing densities ( $F_{2,6} = 0.656$ ,  $p = 0.552$ , Table 4). The HSI was significantly affected by density ( $F_{2,6} = 37.151$ ,  $p < 0.001$ ),



**Figure 2** Weight gain (mean,  $g \pm SE$ ) over 90 days at three different fixed rearing densities [20 (●), 30 (Δ) and 40  $kg \cdot m^{-2}$  (□)] for 100-160 g spotted wolffish (Experiment II)

with fish at 40  $kg \cdot m^{-2}$  having higher HSI compared with those at 20 ( $p < 0.001$ ) and 30  $kg \cdot m^{-2}$  ( $p = 0.002$ ), which shared similar values ( $p = 0.273$ ). Muscle and liver water content did not show any differences between stressed and control fish ( $F_{1,6} = 4.463$ ,  $p = 0.079$  and  $F_{1,6} = 0.025$ ,  $p = 0.880$ , respectively) or among rearing densities ( $F_{2,6} = 1.172$ ,  $p = 0.372$  and  $F_{2,6} = 0.088$ ,  $p = 0.917$ , Table 4). Lysozyme activity in the plasma did not vary before and after the stressor was applied ( $F_{1,6} = 0.722$ ,  $p = 0.428$ ) and was not affected by rearing density ( $F_{2,6} = 0.220$ ,  $p = 0.809$ , Table 4).

**Table 3** Growth parameters (mean  $\pm$  SE) at different sampling times for 100-160 g spotted wolffish raised at three different fixed rearing densities (Experiment II). Means with different superscript letters denote significant differences for the interaction between densities and times of measurement

Parameter	Initial density ( kg·m <sup>-2</sup> )	Time of measurement (number of days)			
		0	29	59	90
Length (cm)	20	21.2 $\pm$ 0.4	22.7 $\pm$ 0.3	23.9 $\pm$ 0.4	25.2 $\pm$ 0.4
	30	21.2 $\pm$ 0.4	22.6 $\pm$ 0.4	24.0 $\pm$ 0.5	25.0 $\pm$ 0.5
	40	21.0 $\pm$ 0.5	22.4 $\pm$ 0.5	23.7 $\pm$ 0.5	24.9 $\pm$ 0.7
CF	20	0.95 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>	0.91 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	0.95 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>	0.97 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>
	30	0.97 $\pm$ 0.04 <sup>ab</sup>	0.93 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>	0.96 $\pm$ 0.02 <sup>ab</sup>	0.97 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>
	40	0.94 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>	0.93 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>	0.96 $\pm$ 0.01 <sup>ab</sup>	1.02 $\pm$ 0.02 <sup>b</sup>
GR (%·day <sup>-1</sup> ) <sup>1</sup>	20	---	0.52 $\pm$ 0.09	0.67 $\pm$ 0.01	0.55 $\pm$ 0.09
	30	---	0.47 $\pm$ 0.17	0.69 $\pm$ 0.02	0.49 $\pm$ 0.07
	40	---	0.55 $\pm$ 0.02	0.68 $\pm$ 0.01	0.65 $\pm$ 0.10

<sup>1</sup>Overall mean growth rates (0-90) are 0.57  $\pm$  0.06, 0.55  $\pm$  0.05 and 0.62  $\pm$  0.03 %·day<sup>-1</sup> at 20, 30 and 40 kg·m<sup>-2</sup>, respectively.

**Table 4** Secondary stress indicators values and lysozyme activity for juvenile spotted wolffish raised at three different fixed rearing densities for 186 days (control) and stressed by an additional air immersion (stressed) (Experiment II). Values are given as mean  $\pm$  SE. Means with different capital superscript letters (also shown by bold font) denote significant differences between densities while significant differences between fish submitted or not to the additional air immersion are shown by small superscript letter

		Density ( kg·m <sup>-2</sup> )		
Stress indicator		20	30	40
Hct	Control	18.3 $\pm$ 0.8 <sup>a</sup>	18.6 $\pm$ 0.9 <sup>a</sup>	19.5 $\pm$ 1.2 <sup>a</sup>
(%)	Stressed	22.1 $\pm$ 1.7 <sup>b</sup>	21.3 $\pm$ 1.3 <sup>b</sup>	21.8 $\pm$ 2.8 <sup>b</sup>
HSI	Control	<b>4.5 <math>\pm</math> 0.3<sup>B</sup></b>	<b>4.4 <math>\pm</math> 0.3<sup>B</sup></b>	<b>4.8 <math>\pm</math> 0.2<sup>A</sup></b>
(%)	Stressed	<b>4.0 <math>\pm</math> 0.2<sup>B</sup></b>	<b>4.4 <math>\pm</math> 0.3<sup>B</sup></b>	<b>4.9 <math>\pm</math> 0.1<sup>A</sup></b>
Plasma proteins	Control	42.79 $\pm$ 2.56 <sup>a</sup>	44.02 $\pm$ 1.90 <sup>a</sup>	44.58 $\pm$ 2.06 <sup>a</sup>
(mg·mL <sup>-1</sup> )	Stressed	45.56 $\pm$ 3.08 <sup>b</sup>	47.62 $\pm$ 2.08 <sup>b</sup>	48.24 $\pm$ 1.87 <sup>b</sup>
Liver water	Control	49.57 $\pm$ 1.86	50.89 $\pm$ 2.34	49.06 $\pm$ 1.35
content (%)	Stressed	50.65 $\pm$ 1.70	48.99 $\pm$ 1.99	49.57 $\pm$ 0.83
Muscle water	Control	75.13 $\pm$ 1.54	75.25 $\pm$ 2.25	75.99 $\pm$ 1.12
content (%)	Stressed	77.57 $\pm$ 0.66	77.42 $\pm$ 1.69	75.16 $\pm$ 0.67
Lysozyme	Control	127.82 $\pm$ 13.12	122.90 $\pm$ 15.37	121.60 $\pm$ 17.58
activity (U·mg <sup>-1</sup> )	Stressed	120.34 $\pm$ 12.21	123.13 $\pm$ 11.57	111.85 $\pm$ 11.25



## 2.5 Discussion

### 2.5.1 Growth

The overall mean GR were similar in both experiments ( $0.61 \pm 0.05\% \text{ day}^{-1}$  in Experiment I,  $0.58 \pm 0.03 \% \cdot \text{day}^{-1}$  in Experiment II;  $t = 0.529$ , d.f. = 13,  $p = 0.606$ ), suggesting that performances were comparable despite the initial size difference. Juvenile spotted wolffish did not show any major growth reductions at the densities used in either experiment and no growth differences were detected between fish maintained at fixed densities of 20, 30 and  $40 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-2}$  in Experiment II. However, some negative impacts were apparent at densities  $\geq 40 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-2}$  in Experiment I (where densities increased with time), with generally lower values of weight, length, CF and SGR. A trend for slower growth was also noted when tanks initially at  $20 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-2}$  increased to  $> 30 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-2}$  as shown by reduced values of weight, CF and SGR after 59 days.

Higher levels of aggression (due to increased competition for food or territory), deterioration of water quality and decreased feeding are often associated with high rearing densities (Ellis *et al.*, 2002; Ruane *et al.*, 2002) and may lead to chronic stress, resulting in energy transfer from growth to the maintenance of homeostasis (Barton & Iwama, 1991; Wendelaar Bonga, 1997). Ellis *et al.* (2002) reviewed 43 studies on rearing density effects on rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) and concluded that the negative impacts at high densities are more likely to be due to poor water quality than to increased level of aggression. However, spotted wolffish is a highly tolerant species to water quality variation, such as salinity and dissolved oxygen, carbon dioxide and non-ionised ammonia concentrations, as reported by Foss *et al.* (2004). Levels of TAN and nitrite remained low

throughout both experiments, and dissolved oxygen concentrations were maintained high. Therefore, the growth reduction detected in fish initially at  $40 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-2}$  in Experiment I is most probably not related to poor water quality.

There were large differences throughout the experiments in the growth responses in individual wolffish, with a large weight variation in both experiments, and observable tank effects, especially in Experiment II. It seems that individual fish vary in their capacity to acclimatize to the rearing conditions, with smaller individuals being more affected than larger ones with no relation to rearing densities, as observed in Atlantic halibut, *Hippoglossus hippoglossus* L. (Kristiansen *et al.*, 2004). It is possible that the smaller fish were suffering from stress or were not able to feed sufficiently because of reduced tank space, although no correlation between weights and stress indicators were detected. Their reduced performance could also be explained by dominance behaviour from the larger individuals.

Important weight variation, as observed in both experiments, usually reveals the presence of competition and the establishment of hierarchies (Jobling, 1995; North *et al.*, 2006), which has been reported by some authors to be more important at high densities (Rubenstein, 1981; Irwin *et al.*, 1999; Papoutsoglou *et al.*, 2006; Schram *et al.*, 2006). However, this was not the case in our experiments.

Observations following the failure of the rearing system that occurred in Experiment II provide some further indication that smaller fish were not achieving their full growth

potential, possibly because of dominance. The fish that survived to this accident, roughly half of the fish in every tank, had a significantly lower mean weight than those that died ( $155.0 \pm 4.5$  g and  $184.9 \pm 9.5$  g, respectively). Assuming that those smaller individuals were subordinates, the breakdown of established hierarchies could explain the observed compensatory growth response. Mean GR increased from  $0.20 \pm 0.04$  %·day<sup>-1</sup>, 27 days prior to the accident, to  $1.09 \pm 0.10$  %·day<sup>-1</sup>, 15 days after the accident. However, the absence of significant correlations between SGR of subsequent periods in Experience I, as also noted by Imsland *et al.* (2009), suggests that persistent strong hierarchies did not form (i.e. the larger fish in one period also being the larger ones in the following period). In light of these inconclusive observations, reports of the presence or absence of hierarchies in spotted wolffish can be qualified as anecdotal and indirect measurements. Further work on the establishment of hierarchies in spotted wolffish is clearly warranted.

### 2.5.2 Welfare

Welfare of juvenile spotted wolffish was not impaired by the rearing densities used in either experiment according to the secondary stress and immune response indicators we measured. Values of Na<sup>+</sup> are similar to those found by Desjardins *et al.* (2006) for 5 kg adults but slightly higher than those observed by Magnussen *et al.* (2008) and Imsland *et al.* (2009) for, respectively, 40 g juveniles and 4 kg adults. No effects of density were observed on the plasma concentrations of Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup>. This result agrees with findings for adult spotted wolffish raised at densities of 50, 70 and 90 kg·m<sup>-2</sup> (Imsland *et al.*, 2009), and for the freshwater species tambaqui, *Colossoma macropomum* (Cuvier) (Gomes *et al.*, 2006).

The review by Ellis *et al.* (2002) identified only one study out of six reporting a positive relation between rearing density and Hct in rainbow trout. However, this parameter is known to show a rapid increase after exposure to an acute stressor (Benfey & Biron, 2000; Acerete *et al.*, 2004). The equivalent increase in Hct values measured after the air immersion challenge for all experimental groups suggests that the densities used did not inhibit or modify the spotted wolffish response to an additional acute stressor. The total amount of plasma proteins was significantly higher in stressed than control fish but did not change with density. In contrast, a decrease following an acute stress has been reported in some freshwater as well as marine species (Jeney *et al.*, 1997, Wang *et al.*, 2004; Biswas *et al.*, 2006). No variation in the plasma proteins concentration with rearing density (Rotllant *et al.*, 2000) as well as positive relationship between these two parameters (Montero *et al.*, 1999) have been documented for the marine gilthead sea bream, *Sparus aurata* L. Leatherland & Cho (1985) found a decrease in plasma proteins with increasing rearing densities in rainbow trout.

A reduction in an organosomatic index, considered a structural secondary stress indicator (Barton & Iwama, 1991), can indicate a reallocation of energy from growth to resistance to a stressor (Barton *et al.*, 2002). No such decrease was observed for HSI. In fact, the HSI was higher at 40 kg·m<sup>-2</sup>, which could be attributed to a possible overall reduction in swimming energy expenditure at the highest density, by prolonged reduced movement ability because of limited available surface area, as suggested by Grigorakis (2007). Increasing rearing densities have been associated with a reduction in (Leatherland & Cho, 1985; Montero *et al.*, 1999), an increase in (Papoutsoglou *et al.*, 2006; Roncarati *et*

*al.*, 2006), or an inconsistent effect on (Papoutsoglou *et al.*, 1998) HSI values. An increase in whole body and organs' water content could be expected under long-term stress because the lipid content tends to decrease and water content tends to increase when more energy is required (Shearer, 1994; Papoutsoglou *et al.*, 2006; Hashemi *et al.*, 2008). Papoutsoglou *et al.* (2006) reported no effect of increasing rearing density on liver water content of juvenile white sea bream *Diplodus sargus* L., similar to the results with wolffish in this study.

A reduction in lysozyme activity is expected under long-term stress while an acute stress tends to induce an increase of this parameter (Möck & Peters, 1990; Demers & Bayne, 1997). No variation was seen either after short-term stress or in relation to density, suggesting that immunity response was not affected by air immersion and high rearing densities in this experiment.

## 2.6 Conclusion

Results from both experiments suggest that there will be relatively minor negative impacts on growth detectable for 50-160 g juvenile spotted wolffish raised at densities of  $\geq 40 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-2}$ . These observations corroborate Jonassen's (2002) findings that stocking juveniles at  $40 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-2}$  (final density of  $59 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-2}$ ) can be slightly detrimental. We therefore suggest as a rule of thumb to avoid densities superior to  $40 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-2}$  for fish of the size 50-100 g while 100-160 g fish and gradually larger fish could most likely be raised at higher densities, reaching the impressive figure of  $90 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-2}$  for adult size fish (Imslund *et al.*, 2009).

Our study is in agreement with previous reports that spotted wolffish, despite the fact that in the wild they are solitary and highly aggressive when provoked by intruders, are surprisingly very tolerant of high densities (Foss *et al.*, 2004; Mortensen *et al.*, 2007; Imsland *et al.*, 2009). This valuable information will be integrated into spotted wolffish cultivation production costs' evaluation actually in progress in Québec, Canada (project GROLOUP). Further research assessing the impact of rearing density on primary stress responses to chronic and acute stress is warranted.

## **2.7 Acknowledgements**

The authors thank T. Grenier and A. Savoie for technical assistance, A. Caron for statistical analyses as well as E. Proulx and Dr G.W. Vandenberg for access to the laboratory facilities for ion composition analysis at the Université Laval. This study was financially supported by the Ministère des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec (MAPAQ) and the Société de développement de l'industrie maricole (SODIM) to NRLF. S.T.B. was supported by student grants from Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC) and the Fonds québécois de la recherche sur la nature et les technologies (FQRNT).

## CHAPITRE 3

### CONCLUSION GÉNÉRALE

#### 3.1 Bilan et avancement des connaissances

Cette étude indique que le loup tacheté tolère très bien l'élevage à haute densité, tant du point de vue de la croissance qu'au niveau du bien-être et du stress. Cela renforce l'intérêt de cette espèce pour le développement et la diversification de l'industrie maricole au Québec, en particulier puisque l'élevage intensif à circuit fermé y est généralement privilégié dû aux conditions climatiques difficiles et au couvert de glace qui empêche l'utilisation de cages marines (Le François & Blier, 2003).

Les résultats de croissance à différentes densités obtenues lors de la présente étude combinés aux travaux de Jonassen (2002) sur les juvéniles ainsi que de Solbakken (données non publiées, cité par Foss *et al.*, 2004) et Imsland *et al.* (2009) sur les adultes permettent de suggérer des barèmes pour l'élevage commercial du loup tacheté. Ainsi, les juvéniles entre 50 et 100 g devraient être maintenus à des densités inférieures à  $40 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-2}$  alors que cette densité est tout-à-fait acceptable chez des individus de plus de 100 g. Les adultes pourraient graduellement être gardés à des densités plus élevées atteignant  $90 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-2}$ .

De plus, le bien-être du loup tacheté n'apparaît pas affecté par le maintien à des densités élevées. En effet, les valeurs de différents paramètres mesurés au cours de la présente étude tels que le gain en poids, le taux de croissance, l'indice de condition corporelle, l'hématocrite, la concentration en ions  $\text{Na}^+$  et  $\text{K}^+$ , la quantité totale de protéines plasmatiques, l'indice hépatosomatique, le contenu en eau et l'activité des lysozymes plasmatiques suggèrent que les poissons élevés à différentes densités ont une croissance, un niveau de stress secondaire et une activité immunitaire similaires. La capacité de répondre à un stress soudain supplémentaire ne semble pas non plus être augmentée ou inhibée par l'élevage à haute densité.

### **3.2 Limites de l'étude et perspectives**

Une des principales limites de cette étude réside certainement dans le fait que le seuil maximal de densité n'a pas été atteint chez les juvéniles de plus de 100 g. Bien que les résultats sur les individus entre 50 et 100 g indiquent que des effets néfastes peuvent être rencontrés autour de  $40 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-2}$ , aucune diminution de croissance ou impact sur le bien-être n'a pu être détectée à cette densité chez les loups tachetés de plus de 100 g. Il serait souhaitable de déterminer plus précisément la limite au-delà de laquelle la densité d'élevage provoque des conséquences négatives pour les loups tachetés de cette taille.

Afin de mieux comparer les résultats des deux expériences, il aurait été préférable de mesurer les taux de croissance individuels plutôt que moyens lors de l'expérience II, mais cela n'a pu être réalisé en raison du coût lié au marquage des poissons.



Sachant que la taille d'un bassin peut avoir un effet direct sur la croissance (Holm *et al.*, 1996, cité par Kristiansen *et al.*, 2004), la plupart des auteurs qui étudient l'effet de la densité d'élevage sur les performances de croissance en aquaculture vont plutôt conserver des tailles de bassins uniformes et faire varier le nombre de poissons au sein de ceux-ci pour obtenir les densités voulues. En raison du nombre limité de poissons disponibles et afin de contrôler l'établissement des hiérarchies potentielles, il a plutôt été choisi lors de la présente étude de conserver le nombre de poissons constant et de modifier la taille des bassins pour ajuster les densités. En effet, un nombre d'individus qui diffère d'un bassin à l'autre peut influencer le développement de la structure sociale et donc aussi la croissance (Jobling, 1995; Irwin *et al.*, 1999; Bolasina *et al.*, 2006, Papoutsoglou *et al.*, 2006). De plus, ce type de montage se prête mieux au réajustement fréquent des densités puisqu'il suffit de changer la longueur des bassins au lieu d'enlever des poissons au fil de l'expérience. À des fins comparatives, il serait toutefois intéressant d'utiliser des tailles de bassins fixes dans des tests de densités futurs.

Certaines observations en lien plus ou moins direct avec cette étude laissent croire à la présence de dominance de la part des loups tachetés les plus gros. Même si aucune évaluation comportementale n'a été faite, il était visible lors des périodes d'alimentation que quelques gros individus par bassin demeuraient en surface, là où l'accès à la nourriture est maximal. Les fortes variations de poids notées dans les bassins, indépendamment de la densité, pourraient donc être expliquées par l'établissement d'une hiérarchie sociale (Kristiansen *et al.*, 2004). La rapide croissance compensatoire survenue chez les plus petits individus suite à la hausse rapide de la température de l'eau qui a presque

systématiquement causé la mort des poissons de plus grande taille suggère également la présence d'une telle hiérarchie. L'absence de corrélations significatives entre les taux de croissance de périodes successives lors de l'expérience I indique cependant que les plus gros individus lors d'une période ne sont pas nécessairement les plus gros lors de la période suivante, donc qu'une hiérarchie stable ne s'est pas formée (Imslund *et al.*, 2009). La présence ou l'absence de hiérarchie chez le loup tacheté en situation d'élevage n'a jamais été documentée de manière pointue. Il s'agit d'une avenue de recherche à envisager pour développer une aquaculture efficace et adaptée à cette espèce. Par ailleurs, des travaux sont actuellement en cours pour étudier l'impact du tri sur la variabilité de la croissance chez le loup tacheté (N. R. Le François, communication personnelle, 2010).

Bien que plusieurs indicateurs de stress secondaire aient été évalués lors de cette étude, il aurait été souhaitable de connaître également la réponse du cortisol au maintien à différentes densités et à l'induction d'un stress additionnel. En effet, la sécrétion de ce corticostéroïde constitue le paramètre le plus utilisé pour mesurer le stress primaire chez les poissons (Donaldson, 1981; Wedemeyer *et al.*, 1990; Barton & Iwama, 1991; Wendelaar Bonga, 1997; Barton, 2002) et semble bien répondre chez le loup, quoique de façon plus modérée que chez la plupart des autres espèces (Lays *et al.*, 2009). Des échantillons de plasma ont été recueillis à cet effet, mais les dosages n'ont pu être réalisés dans le cadre du présent mémoire en raison de contraintes techniques et budgétaires. Cette analyse est toutefois en cours et apportera certainement des informations complémentaires à celles présentées ici (Tremblay-Bourgeois *et al.*, à soumettre dans Aquaculture Research).

Cette étude est parmi les premières à se pencher sur la capacité du loup tacheté à répondre au stress et de futurs travaux portant autant sur les stress soudains que chroniques sont clairement requis pour assurer le bien-être de ce poisson en élevage intensif tout en supportant une production rentable.

## BIBLIOGRAPHIE

- Abou, Y.; E.D. Fiogbe; J.C. Micha. 2007. « Effects of stocking density on growth, yield and profitability of farming Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L., fed Azolla diet, in earthen ponds ». **Aquaculture Research**, volume 38, pp. 595-604.
- Acerete, L.; J.C. Balasch; E. Espinosa; A. Josa; L. Tort. 2004. « Physiological responses in Eurasian perch (*Perca fluviatilis*, L.) subjected to stress by transport and handling ». **Aquaculture**, volume 237, pp. 167-178.
- Ashley, P.J. 2007. « Fish welfare: Current issues in aquaculture ». **Applied Animal Behaviour Science**, volume 104, pp. 199-235.
- Baker, R.F.; G.B. Ayles. 1990. « The effects of varying density and loading level on the growth of Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) ». **World Aquaculture**, volume 21, pp. 58-62.
- Barcellos, L.J.G.; S. Nicolaiewsky; S.M.G. De Souza; F. Lulhier. 1999. « The effects of stocking density and social interaction on acute stress response in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L) fingerlings ». **Aquaculture Research**, volume 30, pp. 887-892.
- Barton, B.A. 2002. « Stress in fishes: A diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids ». **North American Journal of Aquaculture**, volume 42, pp. 517-525.
- Barton, B.A.; G. Iwama. 1991. « Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids ». **Annual Review of Fish Diseases**, volume 1, pp. 3-26.
- Barton, B.A.; J.D. Morgan; M.M. Vijayan. 2002. **Physiological and condition-related indicators of environmental stress in fish**. In: Adams, S.M. (Éd.), Biological indicators of aquatic ecosystem stress. Bethesda (Maryland): American Fisheries Society. pp. 111-148.
- Barton, B.A.; L. Ribas; L. Acerete; L. Tort. 2005. « Effects of chronic confinement on physiological responses of juvenile gilthead sea bream, *Sparus aurata* L., to acute handling ». **Aquaculture Research**, volume 36, pp. 172-179.

- Benfey, T.J.; M. Biron. 2000. « Acute stress response in triploid rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and brook trout (*Salvelinus fontinalis*) ». **Aquaculture**, volume 184, pp. 167-176.
- Biswas, A.K.; M. Seoka; K. Takii; M. Maita; H. Kumai. 2006. « Stress response of red sea bream *Pagrus major* to acute handling and chronic photoperiod manipulation ». **Aquaculture**, volume 252, pp. 566-572.
- Bolasina, S.; T. Masatomo; Y. Yamashita; M. Tanaka. 2006. « Effect of stocking density on growth, digestive enzyme activity and cortisol level in larvae and juveniles of Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus* ». **Aquaculture**, volume 259, pp. 432-443.
- Boujard, T.; L. Labbé; B. Aupérin. 2002. « Feeding behavior, energy expenditure and growth of rainbow trout in relation to stocking density and food accessibility ». **Aquaculture Research**, volume 33, pp. 1233-1242.
- Brown, G.E.; J.A. Brown; R.K. Srivastav. 1992. « The effect of stocking density on the behaviour of Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.) ». **Journal of Fish Biology**, volume 41, pp. 955-963.
- Chrousos, G.P.; P.W. Gold. 1992. « The concepts of stress and stress system disorders. Overview of physical and behavioural homeostasis ». **The Journal of the American Medical Association**, volume 267, pp. 1244-1252.
- Comité sur la situation des espèces en péril au Canada (COSEPAC), 2009. **Espèces sauvages canadiennes en péril**. 105 p.  
([http://www.cosepac.gc.ca/fra/sct0/rpt/rpt\\_csar\\_f.pdf](http://www.cosepac.gc.ca/fra/sct0/rpt/rpt_csar_f.pdf))
- Demers, N.E.; C.J. Bayne. 1997. « The immediate effects of stress on hormones and plasma lysozyme in rainbow trout ». **Developmental and Comparative Immunology**, volume 21, pp. 363-373.
- Desjardins, M.; N.R. Le François; G.L. Fletcher; P.U. Blier. 2006. « Seasonal modulation of plasma antifreeze protein levels in Atlantic (*Anarhichas lupus*) and spotted wolffish (*A. minor*) ». **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, volume 335, pp. 142-150.
- Donaldson, E.M. 1981. **The pituitary–interrenal axis as an indicator of stress in fish**. In: Pickering, A.D. (Éd.), *Stress and Fish*. London : Academic Press. pp. 11-41.
- Ellis, T.; B. North; A.P. Scott; N.R. Bromage; M. Porter; D. Gadd. 2002. « The relationships between stocking density and welfare in farmed rainbow trout ». **Journal of Fish Biology**, volume 61, pp. 493-531.

- El-Sayed, A.F. 2002. « Effects of stocking density and feeding levels on growth and feed efficiency of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) fry ». **Aquaculture Research**, volume 33, pp. 621-626.
- Falk-Petersen, I.B.; T.K. Hansen; R. Fieler; I.M. Sunde. 1999. « Cultivation of the spotted wolffish *Anarhichas minor* (Olafsen) – a new candidate for cold-water fish farming ». **Aquaculture Research**, volume 30, pp. 711-718.
- Foss, A.; T.H. Evensen; V. Øiestad. 2002. « Effects of hypoxia and hyperoxia on growth and food conversion efficiency in the spotted wolffish *Anarhichas minor* (Olafsen) ». **Aquaculture Research**, volume 33, pp. 437-444.
- Foss, A.; T. Vollen; V. Øiestad. 2003. « Growth and oxygen consumption at normal and O<sub>2</sub> supersaturated water, and interactive effects of O<sub>2</sub> saturation and ammonia on growth in the spotted wolffish *Anarhichas minor* (Olafsen) ». **Aquaculture**, volume 224, pp. 105-116.
- Foss, A.; A.K. Imsland; I.B. Falk-Petersen; V. Øiestad. 2004. « A review of the culture potential of spotted wolffish *Anarhichas minor* Olafsen ». **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, volume 14, pp. 277-294.
- Gomes, L.C.; E.C. Chagas; H. Martins-Junior; R. Roubach; E.A. Ono; J.N.P. Lourenço. 2006. « Cage culture of tambaqui (*Colossoma macropomum*) in a central Amazon floodplain lake ». **Aquaculture**, volume 253, pp. 374-384.
- Grigorakis, K. 2007. « Compositional and organoleptic quality of farmed and wild gilthead sea bream (*Sparus aurata*) and sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and factors affecting it: A review ». **Aquaculture**, volume 272, pp. 55-75.
- Hashemi, S.; R. Blust; G. De Boeck. 2008. « Combined effects of different food rations and sublethal copper exposure on growth and energy metabolism in common carp ». **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, volume 54, pp. 318-324.
- Haukenes, A.H.; B.A. Barton. 2004. « Characterization of the cortisol response following an acute challenge with lipopolysaccharide in yellow perch and the influence of rearing density ». **Journal of Fish Biology**, volume 64, pp. 851-862.
- Holm, J.C.H.; Ø. Karlsen; B. Norberg. 1996. **Vekst og kjønnsmodning hos kveite og torsk**. Sluttrapport til Norges Forskningsråd Pnr. 104835/110 og 1072225/100. 27 p.
- Huang, W.B.; T.S. Chiu. 1997. « Effects of stocking density on survival, growth, size variation, and production of Tilapia fry ». **Aquaculture Research**, volume 28, pp. 165-173.

- Imslund, A.K.; A. Foss; L.O. Sparboe; S. Sigurdsson. 2006. « The effect of temperature and fish size on growth and feed efficiency ratio of juvenile spotted wolffish *Anarhichas minor* ». **Journal of Fish Biology**, volume 68, pp. 1107-1122.
- Imslund, A.K.; S. Gunnarsson; A. Foss; B. Sigurdsson; S. Sigurdsson. 2009. « Stocking density and its influence on growth of spotted wolffish, *Anarhichas minor*, in shallow raceways ». **Journal of the World Aquaculture Society**, volume 40, pp. 762-770.
- Irwin, S.J.; J. O'Halloran; R.D. FitzGerald. 1999. « Stocking density, growth and growth variation in juvenile turbot, *Scophthalmus maximus* (Rafinesque) ». **Aquaculture**, volume 178, pp. 77-88.
- Jeney, G.; M. Galeotti; D. Volpatti; Z. Jeney; D.P. Anderson. 1997. « Prevention of stress in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed diets containing different doses of glucan ». **Aquaculture**, volume 154, pp. 1-15.
- Jonassen, T.M. 2002. « Effects of photoperiod, stocking density and diet on growth in young spotted wolffish (*Anarhichas minor* olafsen) ». **Aquaculture International**, volume 10, pp. 411-420.
- Jobling, M. 1995. « Simple indices for the assessment of the influences of social environment on growth performances, exemplified by studies on Arctic charr ». **Aquaculture International**, volume 3, pp. 60-65.
- Jorgensen, E.H.; J.S. Christiansen; M. Jobling. 1993. « Effects of stocking density on food intake, growth performance and oxygen consumption in Arctic charr (*Salvelinus alpinus*) ». **Aquaculture**, volume 110, pp. 191-204.
- Kristiansen, T.S.; A. Ferno; J.C. Holm; L. Privitera; S. Bakke; J.E. Fosseidengen. 2004. « Swimming behaviour as an indicator of low growth rate and impaired welfare in Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) reared at three stocking densities ». **Aquaculture**, volume 230, pp. 137-151.
- Kulka, D.; C. Hood; J. Huntington. 2007. **Recovery strategy for Northern wolffish (*Anarhichas denticulatus*) and spotted wolffish (*Anarhichas minor*), and management plan for Atlantic wolffish (*Anarhichas lupus*) in Canada**. Fisheries and Oceans Canada: Newfoundland and Labrador region. St-John's (NL). 103 p. (<http://www.sararegistry.gc.ca/>).
- Laflamme, J.; J.C. Michaud; M. Lévesque; N. Le François. 2004. **Potentiel commercial et technico-financier de l'élevage du loup de mer tacheté au Québec**. Rapport final présenté au MAPAQ, à la SODIM et à DEC. GRM-UQAR. 83 p + 8 annexes.

- Larocque, R.; M.H. Gendron; J.D. Dutil. 2008. **A survey of wolffish (*Anarhichas* spp.) and wolffish habitat in Les Méchins, Quebec.** Canadian Technical Report of Fisheries and Aquatic Sciences 2786. vi + 29 p.
- Lays, N.; M.M.T. Iversen; M. Frantzen; E.H. Jorgensen. 2009. « Physiological stress responses in spotted wolffish (*Anarhichas minor*) subjected to acute disturbance and progressive hypoxia. » **Aquaculture**, volume 295, pp. 126-133.
- Leatherland, J.F.; C.Y. Cho. 1985. « Effect of rearing density on thyroid and interrenal gland activity and plasma hepatic metabolite levels in rainbow trout, *Salmo gairdneri*, Richardson ». **Journal of Fish Biology**, volume 27, pp. 583-592.
- Le François, N.R.; P.U. Blier. 2003. « Reproductive events and associated reduction in the seawater adaptability of brook charr (*Salvelinus fontinalis*): evaluation of gill metabolic adjustments ». **Aquatic Living Resources**, volume 16, pp. 69-76.
- Le François, N.R.; B. Archer. 2007. **Guide sur l'élevage du loup de mer. Reproduction et incubation.** Guide technique n° 7, MAPAQ-DIT, Gaspé, 18 p.
- Le François, N.R.; H. Lemieux; P.U. Blier. 2002. « Biological and technical evaluation of the potential of marine and anadromous fish species for cold-water mariculture ». **Aquaculture Research**, volume 33, pp. 95-108.
- Le François, N.R.; S.G. Lamarre; P.U. Blier. 2004. « Tolerance, growth and haloplasticity of the Atlantic wolffish (*Anarhichas lupus*) exposed to various salinities ». **Aquaculture**, volume 236, pp. 659-675.
- Mazeaud, M.M.; F. Mazeaud; E.M. Donaldson. 1977. « Primary and secondary effects of stress in fish: some new data with a general review ». **Transactions of the American Fisheries Society**, volume 106, pp. 201-212.
- Magnadóttir, B. 2006. « Innate immunity of fish (overview) ». **Fish & Shellfish Immunology**, volume 20, pp. 137-151.
- Magnussen, A.B.; A.K. Imsland; A. Foss. 2008. « Interactive effects of different temperatures and salinities on growth, feed conversion efficiency, and blood physiology in juvenile spotted wolffish, *Anarhichas minor* Olafsen ». **Journal of the World Aquaculture Society**, volume 39, pp. 804-811.
- Maricchiolo, G.; G. Caruso; L. Genovese. 2008. « Haematological and immunological responses in juvenile sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) after short-term acute stress ». **The Open Fish Science Journal**, volume 1, pp. 28-35.
- McEwen, B.S. 1998. « Protective and damaging effects of stress mediators ». **The New England Journal of Medicine**, volume 338, pp. 171-179.



- McGeer, J.C.; L. Baranyi; G.K. Iwama. 1991. « Physiological responses to challenge tests in six stocks of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) ». **Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, volume 48, pp. 1761-1771.
- Merino, G.E.; R.H. Piedrahita; D.E. Conklin. 2007. « The effect of fish stocking density on the growth of California halibut (*Paralichthys californicus*) juveniles ». **Aquaculture**, volume 265, pp. 176-186.
- Metz, J.R.; M.O. Huising; K. Leon; B.M.L. Verburg-van Kemenade; G. Flik. 2006. « Central and peripheral interleukin-1 $\beta$  and interleukin-1 receptor I expression and their role in the acute stress response of common carp, *Cyprinus carpio* L ». **Journal of Endocrinology**, volume 191, pp. 25-35.
- Möck, A.; G. Peters. 1990. « Lysozyme activity in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), stressed by handling, transport and water pollution ». **Journal of Fish Biology**, volume 37, pp. 873-885.
- Montero, D.; M.S. Izquierdo; L. Tort; L. Robaina; J.M. Vergara. 1999. « High stocking density produces crowding stress altering some physiological and biochemical parameters in gilthead seabream, *Sparus aurata*, juveniles ». **Fish Physiology and Biochemistry**, volume 20, pp. 53-60.
- Mortensen, A.; H. Toften; K. Aas. 2007. « Cage culture of spotted wolffish (*Anarhichas minor* Olafsen) ». **Aquaculture**, volume 264, pp. 475-478.
- North, B.P.; J.F. Turnbull; T. Ellis; M.J. Porter; H. Migaud; J. Bron; N.R. Bromage. 2006. « The impact of stocking density on the welfare of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) ». **Aquaculture**, volume 255, pp. 466-479.
- Øiestad, V. 1999. « Shallow raceways as a compact resource maximising farming procedure for marine fish species ». **Aquaculture Research**, volume 30, pp. 1-10.
- Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO), 2008. **The state of world fisheries and aquaculture 2008**. 196 p.  
(<http://www.fao.org/docrep/011/i0250e/i0250e00.htm>)
- Pankhurst, N.W.; R.M. Wells; J.F. Carragher. 1992. « Effects of stress on plasma cortisol levels and blood viscosity in blue mao mao, *Scorpius violaceus* (Hutton), a marine teleost ». **Comparative Biochemistry and Physiology, part A**, volume 101, pp. 335-339.
- Papoutsoglou, S.E.; G. Tziha; X. Vrettos; A. Athanasiou. 1998. « Effects of stocking density on behavior and growth rate of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles reared in a closed circulated system ». **Aquacultural Engineering**, volume 18, pp. 135-144.

- Papoutsoglou, S.E.; N. Karakatsouli; G. Pizzonia; C. Dalla; A. Polissidis; Z. Papadopoulou-Daifoti. 2006. « Effects of rearing density on growth, brain neurotransmitters and liver fatty acid composition of juvenile white sea bream *Diplodus sargus* L. ». **Aquaculture Research**, volume 37, pp. 87-95.
- Pêches et océans canada (MPO). (Page consultée le 8 avril 2010). Production aquacole du Canada en 2008, [En ligne]. Adresse URL : <http://www.dfo-mpo.gc.ca/stats/aqua/aqua08-fra.htm>
- Pickering, A.D.; A. Stewart. 1984. « Acclimation of the interrenal tissue of the brown trout, *Salmo trutta* L., to chronic crowding stress ». **Journal of Fish Biology**, volume 24, pp. 731-740.
- Pickering, A.D.; T.G. Pottinger. 1989. « Stress responses and disease resistance in salmonid fish: effects of chronic elevation of plasma cortisol ». **Fish Physiology and Biochemistry**, volume 7, pp. 253-258.
- Pottinger, A.D.; T.G. Pickering; M.A. Hurley. 1992. « Consistency in the stress response of individuals of two strains of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* ». **Aquaculture**, volume 103, pp. 275-289.
- Pottinger, T.G.; W.E. Yeomans; T.R. Carrick. 1999. « Plasma cortisol and 17 beta-oestradiol levels in roach exposed to acute and chronic stress ». **Journal of Fish Biology**, volume 54, pp. 525-532.
- Rahman, M.M.; M.S. Islam; G.C. Halder; M. Tanaka. 2005. « Cage culture of sutchi catfish, *Pangasius sutchi* (Fowler 1937): effects of stocking density on growth, survival, yield and farm profitability ». **Aquaculture Research**, volume 37, pp. 33-39.
- Ramsay, J.M.; G.W. Feist; Z.M. Varga; M. Westerfield; M.L. Kent; C.B. Schreck. 2006. « Whole-body cortisol is an indicator of crowding stress in adult zebrafish, *Danio rerio* ». **Aquaculture**, volume 258, pp. 565-574.
- Refstie, T. 1986. « Genetic differences in stress response in Atlantic salmon and rainbow trout ». **Aquaculture**, volume 57, p. 374.
- Roncarati, A.; P. Melotti; A. Dees; O. Mordenti; L. Angellotti. 2006. « Welfare status of cultured seabass (*Dicentrarchus labrax* L.) and seabream (*Sparus aurata* L.) assessed by blood parameters and tissue characteristics ». **Journal of Applied Ichthyology**, volume 22, pp. 225-234.
- Rotllant, J.; P.H.M. Balm; N.M. Ruane; J. Pérez-Sánchez; S.E. Wendelaar-Bonga; L. Tort. 2000. « Pituitary Proopiomelanocortin-Derived Peptides and Hypothalamus–Pituitary–Interrenal Axis Activity in Gilthead Sea Bream (*Sparus aurata*) during

- Prolonged Crowding Stress: Differential Regulation of Adrenocorticotropin Hormone and  $\alpha$ -Melanocyte-Stimulating Hormone Release by Corticotropin-Releasing Hormone and Thyrotropin Releasing Hormone ». **General and Comparative Endocrinology**, volume 119, pp. 152-163.
- Ruane, N.M.; E.C. Carballo; J. Komen. 2002. « Increased stocking density influences the acute physiological stress response of common carp *Cyprinus carpio* (L.) ». **Aquaculture Research**, volume 33, pp. 777-784.
- Rubenstein, D.I. 1981. « Individual variation and competition in the everglades pygmy sunfish ». **The Journal of Animal Ecology**, volume 50, pp. 337-350.
- Schram, E.; J.W. Van Der Heul; A. Kamstra; M.C.J. Verdegem. 2006. « Stocking density-dependent growth of Dover sole (*Solea solea*) ». **Aquaculture**, volume 252, pp. 339-347.
- Schreck, C.B. 1981. **Stress and compensation in teleostean fishes: response to social and physical factors**. In: Pickering, A.D. (Éd.), Stress and fish. London : Academic Press. pp. 295-321.
- Schreck, C.B.; W. Contreras-Sanchez; M.S. Fitzpatrick. 2001. « Effects of stress on fish reproduction, gamete quality, and progeny ». **Aquaculture**, volume 197, pp. 3-24.
- Shearer, K.D. 1994. « Factors affecting the proximate composition of cultured fishes with emphasis on salmonids ». **Aquaculture**, volume 119, pp. 63-88.
- Shugar, D. 1952. « Measurement of lysozyme activity and the ultraviolet inactivation of lysozyme ». **Biochimica et Biophysica Acta**, volume 8, pp. 302-308.
- Siddiqui, A.Q.; M.S. Howlader; A.B. Adam. 1989. « Culture of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.), at three stocking densities in outdoor concrete tanks using drainage water ». **Aquaculture and Fisheries Management**, volume 20, pp. 49-58.
- Sloman, K.A.; K.M. Gilmour; A.C. Taylor; N.B. Metcalfe. 2000. « Physiological effects of dominance hierarchies within groups of brown trout, *Salmo trutta*, held under simulated natural conditions ». **Fish physiology and biochemistry**, volume 22, pp. 11-20.
- Smith, P.K.; R.I. Krohn; G.T. Hermanson; A.K. Mallia; F.H. Gartner; M.D. Provenzano; E.K. Fujimoto; N.M. Goeke; B.J. Olson; D.C. Klenk. 1985. « Measurement of protein using bicinchoninic acid ». **Analytical Biochemistry**, volume 150, pp. 76-85.

- Stoner, A.W.; M.L. Ottmar. 2004. « Fish density and size alter Pacific halibut feeding: implications for stock assessment ». **Journal of Fish Biology**, volume 64, pp. 1712-1724.
- Tremblay-Bourgeois, S.; N.R. Le François; R.L. Roy; T.J. Benfey; A.K. Imsland. 2009. « Effect of rearing density on the growth and welfare indices of juvenile spotted wolffish, *Anarhichas minor* (Olafsen) » **Aquaculture Research**, doi:10.1111/j.1365-2109.2009.02405.x.
- Trenzado, C.E.; A.E. Morales; M. De La Higuera. 2006. « Physiological effects of crowding in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, selected for low and high stress responsiveness ». **Aquaculture**, volume 258, pp. 583-593.
- Varsamos, S.; G. Flik; J.F. Pepin; S.E. Wendelaar Bonga; G. Breuil. 2006. « Husbandry stress during early life stages affects the stress response and health status of juvenile sea bass, *Dicentrarchus labrax* ». **Fish and Shellfish Immunology**, volume 20, pp. 83-96.
- Vijayan, M.M.; T.W. Moon. 1994. « The stress response and the plasma disappearance of corticosteroid and glucose in a marine teleost, the sea raven ». **Canadian Journal of Zoology**, volume 72, pp. 379-386.
- Wallace, J.C.; A.G. Kolbeinshavn; T.G. Reinsnes. 1988. « The effects of stocking density on early growth in Arctic charr, *Salvelinus alpinus* (L.) ». **Aquaculture**, volume 73, pp. 101-110.
- Wang, C.; W. King; C. Woods. 2004. « Physiological indicators of divergent stress responsiveness in male striped bass broodstock ». **Aquaculture**, volume 232, pp. 665-678.
- Wedemeyer, G.A. 1997. **Effects of rearing conditions on the health and physiological quality of fish in intensive culture**. In: Iwama, G.K.; A.D. Pickering; J.P. Sumpter; C.B. Schreck. (Éds.), *Fish stress and health in aquaculture*. Cambridge : Cambridge University Press. pp. 35-70.
- Wedemeyer, G.A.; B.A. Barton; D.J. McLeay. 1990. **Stress and acclimation**. In: Schreck, C.B.; P.B. Moyle. (Éds.), *Methods for Fish Biology*. Bethesda (Maryland): American Fisheries Society. pp. 451-489.
- Wendelaar Bonga, S.E. 1997. « The stress response in fish ». **Physiological Reviews**, volume 77, pp. 591-625.

